

EXHIBIT A

Abstract:

The purpose of the research was to develop and test a research model for studying the effects of a meal to the blood glucose and insulin concentrations and to the control of the heart by the autonomic nervous system by analyzing the heart rate interval variation and the changes in pulse and blood pressure and further to find out possible differences in physiological responses between water and different carbohydrate-containing drinks. Eight healthy 21-36 year old males were tested. A versatile health examination was used as screening. The four examinations were about a week apart. The test subjects drank in random order either a solution containing 75 g glucose, water, commercial Flow™ drink [the composition of the present invention] or a Flow drink without "bioactive substances" (hereinafter Fru+Glu).

Tutkimuksen tarkoituksena oli kehittää ja testata tutkimusmalli, jonka avulla voidaan tutkia arterian vaikutuksia veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin sekä sydämen autonomisen hermoston kautta tapahtuvaan säätelyyn sykevälivaihtelua sekä syke- ja verenpainemuutoksia analysoimalla sekä toisaalta selvittää mahdollisia eroja mitatuissa fysiologisissa vasteissa veden ja erilaisten hiilihydraattipitoisten juomien välillä. Tutkimushenkilöinä oli kahdeksan tervettä iältään 21- 36 -vuotiasta miestä. Seulontatutkimuksena oli monipuolinen terveystarkastus. Neljä tutkimuskertaa olivat noin viikon välein. Tutkittavat joivat satunnaistetussa järjestyksessä 75 g glukoosia sisältävää liuosta, vettä, kaupallista Flow™-juomaa ja ilman "bioaktiivisia aineita" valmistettua Flow™-juomaa (myöhemmin Fru+glu). ABSTRACT

Discussion (page 63):

7.1.4 Bioactive substances and the heart rate variation

The effect of the bioactive substances were examined by the responses of the Flow drink containing thereof and a Fru+Glu drink prepared without the bioactive substances. The effects of the drinks to the blood glucose and insulin concentrations were similar. The Flow drink and also indicatively the Fru+Glu drink lowered the heart rate. The effect of Flow drink to the total heart rate variation was very small, but the Fru+Glu drink seemed to increase the SDNN value (*SDNN = standard deviation of the RR intervals, RR interval = distance of the RR-peaks in EKG (ms)*). This difference between the responses caused by the drinks may be a result of the effect of the bioactive substances.

7.1.4 Bioaktiiviset aineet ja sykevaihtelu

Bioaktiivisten aineiden vaikutuksia selvitettiin niitä sisältävän Flow™-juoman sekä ilman bioaktiivisia aineita valmistetun Fru+glu-juoman aiheuttamien vasteiden avulla. Juomien

vaikutukset veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin olivat samantyyppisiä. Flow™-juoma sekä suuntaa-antavasti Fru+glu-juoma laskivat sykettä. Flow™-juoman mahdollinen vaikutus kokonaisrykevaihteluun oli hyvin pieni, mutta Fru+glu-juoma näytti suurentavan SDNN-arvoa. Fru+glu-juoman osalta SDNN-arvo suureni mittauksen loppua kohden. Kyseessä saattoi olla bioaktiivisista aineista johtuva juomien välinen ero niiden aiheuttamissa vasteissa. DISCUSSION p. 63

SDNN = standard deviation of the RR intervals, RR interval = distance of the RR-peaks in EKG (ms)

**Hiilihydraattipitoisten juomien vaikutukset sydämen
sykevälivaihteluun ja verenpaineeseen terveillä miehillä**

Pro Gradu
Marraskuu 2008
Helsingin yliopisto,
ravitsemustieteen osasto
Harriet Hägglund

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos	
Tekijä — Författare — Author ETK Harriet Hägglund			
Työn nimi — Arbets titel — Title HIILIHYDRAATTIPITOISTEN JUOMIEN VAIKUTUKSET SYDÄMEN SYKEVÄLIVAIHTELUUN JA VERENPAINEESEEN TERVEILLÄ MIEHILLÄ			
Oppiaine — Läroämne — Subject Ravitsemustiede			
Työn taji — Arbets art — Level Pro gradu	Aika — Datum — Month and year Marraskuu 2008	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 98	
<p>Tiivistelmä — Referat — Abstract</p> <p>Parasympaattiseen ja sympaattiseen puoliskoon jakautuva autonominen hermosto on keskeisten elinten, kuten sydämen tärkeä säätelijä. Pitkäaikainen häiriö herkässä tasapainossa sympaattisen ja parasympaattisen säätelyn välillä johtaa usein sairastumiseen. Autonominen hermoston sydämeen kohdistuvaa säätelyä voidaan tutkia sydämen sykevälivaihtelun avulla. Ravinnolla on pitkäaikaisia ja välittömiä vaikutuksia sykevälivaihteluun. Ravitsemus saattaaakin olla yksi autonominen hermoston terveyteen liittyvistä elintapatekijöistä, joihin ihminen itse voi vaikuttaa.</p> <p>Tutkimuksen tarkoituksena oli kehittää ja testata tutkimusmalli, jonka avulla voidaan tutkia aterian vaikutuksia veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin sekä sydämen autonominen hermoston kautta tapahtuvaan säätelyyn sykevälivaihtelua sekä syke- ja verenpainemuutoksia analysoimalla sekä toisaalta selvittää mahdollisia eroja mitatuissa fysiologisissa vasteissa veden ja erilaisten hiilihydraattipitoisten juomien välillä.</p> <p>Tutkimushenkilöinä oli kahdeksan tervettä iältään 21- 36 -vuotiasta miestä. Seulontatutkimuksena oli monipuolinen terveystarkastus. Neljä tutkimuskertaa olivat noin viikon välein. Tutkittavat joivat satunnaistetussa järjestyksessä 75 g glukoosia sisältävää liuosta, vettä, kaupallista Flow™-juomaa ja ilman "bioaktiivisia aineita" valmistettua Flow™-juomaa (myöhemmin Fru+glu). Juoma-annos oli 300 ml. Fysiologisia vasteita rekisteröitiin makuuasennossa ennen juoman nauttimista sekä 150 minuutin ajan sen jälkeen. Tutkimusmenetelminä olivat sydänsähkökäyrärekisteröinti syke- ja sykevälivaihteluanalyysit, jatkuvatoiminen ja manuaalinen verenpainemittaus, hengitystheyden mittausta sekä verinäytteiden glukoosi- ja insuliinipitoisuusmääntykset.</p> <p>Tuloksia käsiteltiin Excel 07 -taulukkolaskentaohjelmalla ja SPSS 15.0 -tilastoanalyysiohjelmalla. Muuttujien jakautuneisuus todettiin epänormaaliksi Kolmogorov-Smirnovin testillä. Vertailuissa käytettiin Friedmanin ei-parametristä toistomittausten ANOVA-testiä ja Wilcoxonin sijalukujen merkkitestiä. Merkitsevyyden rajana oli $p < 0,05$, johon tarvittaessa tehtiin Bonferroni-korjaus. Juomien vaikutuksia tutkittiin vertaamalla muuttujien arvoja aikapisteiden kesken sekä vertaamalla seuranta-ajan suurimpia ja pienimpiä arvoja lähtöarvoon. Juomien välisiä eroja tutkittiin vertaamalla suurimpia ja pienimpiä arvoja sekä pinta-aloja, jotka jäävät muuttujien arvoja eri aikapisteissä kuvaavien vastekäyrien ja lähtötasojen väliin. Glukoosiaineenvaihdunnan merkitystä tutkittiin vertaamalla suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden ajanhetkillä rekisteröityjä muuttujien arvoja. Muuttujista laskettiin myös lähtötilanteiden variaatiokertoimia.</p> <p>Valmistautumisohjeiden noudattaminen näyttäisi pienentävän lähtömittausten variaatiokertoimia. Tulokset viittaavat 75 gramman glukoosiannoksen pienentävän sykevälivaihtelun sydämen parasympaattista säätelyä kuvaavia muuttujia. Veden juominen laski sykettä ja lisäsi kokonaissykevaihtelua sekä sykevälivaihtelumuuttujien perusteella parasympaattista säätelyä. Fru+glu-juoma lisäsi kokonaissykevaihtelua ja laski suuntaa-antavasti sykettä. Myös Flow™-juoma laski sykettä. Vähemmän sokereita sisältäneet Fru+glu- ja Flow™-juoma suurensivat veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksia vähemmän kuin glukoosiliuos. Muutokset sykkeessä tai sykevaihtelumuuttujissa eivät olleet yhteydessä veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin. Tuloksissa oli eroja eri verenpainemittaustekniikoiden välillä.</p> <p>Tutkimusmenetelmällä, jota tässä työssä kehiteltiin ja testattiin, havaittiin erilaisten hiilihydraattipitoisten juomien ja veden välittömiä vaikutuksia sykkeeseen ja suuntaa-antavasti sykevälivaihteluun. Verenpainemittaustekniikka vaatii lisäselvityksiä. Menetelmään on mahdollista lisätä erilaisia sykeväli- ja verenpainevaihtelun analyysitekniikoita.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Glukoosi, vesi, sykevälivaihtelu, syke, verenpaine, autonominen hermosto			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
<p>Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information</p> <p>Ohjaajat: ETT, dos. Riitta Freese, LitT Juha Peltonen, LT, dos. Heikki Tikkanen</p> <p>Yhteistyössä Helsingin yliopiston liikuntalääketieteen yksikön ja Urheilulääketieteen säätiön kanssa.</p>			

SISÄLLYSLUETTELO

1	Johdanto	6
2	Kirjallisuuskatsaus	8
2.1	Autonominen hermosto	8
2.1.1	Autonomisen hermoston tutkimusmenetelmät	8
2.2	Sydämen rakenne, toiminta ja sydänsähkökäyrä	10
2.3	Autonominen hermosto ja sydän	11
2.4	Verenpaine ja sen säätely	12
2.5	Barorefleksi – sydämen toimintaa säätelevä refleksi	13
2.6	Sykevaihtelun mittaaminen ja analysointi	15
2.7	Sykevaihtelumuuttujien fysiologiset taustat	17
2.7.1	Aikatarkastelu	17
2.7.2	Taajuustarkastelu eli taajuusspektrianalyysi	18
2.8	Sykevaihteluun ja verenpaineeseen vaikuttavat tekijät	20
2.8.1	Mittausilanteeseen liittyvät seikat	20
2.8.2	Sukupuoli, hormonit ja ikä	20
2.8.3	Veren insuliinipitoisuus, diabetes ja lihavuus	21
2.8.4	Fyysinen harjoittelusta ja liikunnan välittömät vaikutukset	21
2.9	Ravinnon vaikutukset sykevaihteluun	22
2.9.1	Ravinnon pitkäaikaiset vaikutukset	22
2.9.2	Ravinnon lyhytaikaiset vaikutukset	23
2.9.3	Tutkimuksia aterian välittömistä vaikutuksista sykevaihteluun	25
2.9.4	Bioaktiiviset aineet ja sykevaihtelu	26
2.10	Yhteenveto kirjallisuudesta	27
3	Tutkimuksen tavoitteet ja tutkimusongelmat	28
4	Tutkimusmenetelmät ja aineisto	29
4.1	Tutkimushenkilöiden rekrytointi ja seulontatutkimukset	29
4.2	Poissulkukriteerit	31
4.3	Tutkimusjuomat	32
4.4	Tutkimuspäivän valmistautumisohteet	33
4.5	Tutkimuspäivän kulku	33
4.6	Jatkuvatoimisen verenpainemittauksen periaatteet	36
4.7	Fysiologisten mittaussignaalien käsittely ja analysointi	36
4.8	Verinäytteiden käsittely ja analyysit	37
4.9	Tulosten laskenta ja tilastolliset analyysit	38
5	Tulokset	41
5.1	Tutkimushenkilöt	41
5.2	Tutkimukseen valmistautuminen	42
5.3	Veren glukoosi- ja insuliinipitoisuudet	43
5.4	Syke ja verenpaine	45
5.5	Sykevaihtelun aikamuuttujat	50
5.6	Sykevaihtelun taajuusmuuttujat	55
6	Tulosten tarkastelu	61
7	Pohdinta	62
7.1	Tulosten arviointia ja aikaisemmat tutkimustulokset	62
7.1.1	Mittaus tulosten hajonta ja tutkimukseen valmistautuminen	62
7.1.2	Juomien vaikutukset veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin	62
7.1.3	Glukoosiannos ja sykevaihtelu	62
7.1.4	Bioaktiiviset aineet ja sykevaihtelu	63
7.1.5	Veden juomisen vaikutukset sykevaihteluun	64
7.1.6	Sykevaihtelumuutosten yhteys veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin	64
7.1.7	Hiilihydraattimäärän vaikutus sykevaihteluun	65

7.1.8	Juomien vaikutus sydämen sykkeeseen ja verenpaineeseen.	65
7.2	Tutkimuksen arviointia	66
7.2.1	Tutkimusjuomat	66
7.2.2	Tutkimushenkilöt	67
7.2.3	Tutkimukseen valmistautuminen ja mittaustilanne	68
7.2.4	Verinäytteenotto	69
7.2.5	Laitteet ja analyysit	69
7.2.6	Rinnakkaismenetelmät ja toistomittaukset	70
7.3	Yleistettävyyys	71
7.4	Tulevat tutkimukset	71
8	Johtopäätökset	73
9	Lähteet	74

Liitteet

- Liite 1. Tutkimuksessa käytetyt välineet, tarvikkeet, pika-analyysit ja laitteet
- Liite 2. Tutkittavan tiedote
- Liite 3. Suostumuslomake
- Liite 4. Ruoka- ja liikuntapäiväkirjan täyttöohjeet ja esimerkkisivu
- Liite 5. Kuntoluokitus Shvartzin ja Reiboldin mukaan (Keskinen ym. 2004)
- Liite 6. Valmistautumisohje tutkimukseen
- Liite 7. Valmistautumisohjeen liite
- Liite 8. Tutkimuksessa mukana olleet äänikirjat
- Liite 9. Tutkimushenkilöittäin ja tutkimusjuomittain:
 - Sydämen sykkeet ja plasman glukoosipitoisuudet
 - Sydämen sykkeet ja seerumin insuliinipitoisuudet
 - Sykevaihtelun SDNN-muuttujan arvot ja plasman glukoosipitoisuudet
 - Sykevaihtelun SDNN-muuttujan arvot ja seerumin insuliinipitoisuudet

Tekstissä esiintyvät lyhenteet

Lyhenne	Englanniksi	Selitys
EKG	electrocardiogram	elektrokardiogrammi, sydänsähkökäyrä
HF	high frequency	korkea taajuusalue
HFnu	normalized high frequency	korkean taajuusalueen normalisoitu sykevälivaihtelu
Hz	herz	hertsi, taajuuden yksikkö (1/s)
LF	low frequency	matala taajuusalue
LFnu	normalized low frequency	matalan taajuusalueen normalisoitu sykevälivaihtelu
mmol	millimole	millimooli
ms	millisecond	millisekunti
mU	milliunit	milliyksikkö
pNN50		peräkkäisten sykevälien osuus, joiden kestoissa eroa yli 50 ms
RMSSD	square root of the mean squared differences of successive RR intervals	peräkkäisten sykevälien erotuksen toisen potenssin summan neliöjuuri
RR-väli	RR interval	EKG:n RR-huippukohtien etäisyys (ms)
SDNN	standard deviation of the RR intervals	kaikkien analysoitujen RR- välien keskihajonta
ULF	Ultra low frequency	ultramatala taajuusalue
VLF	very low frequency	erittäin matala taajuusalue

1 Johdanto

Elimistön tärkein säätelyjärjestelmä on keskushermosto, joka koordinoi koko elimistön toimintaa. Parasympaattiseen ja sympaattiseen puoliskoon jakautuva autonominen hermosto säätelee keskeisiä tahdosta riippumattomia elintoimintoja. Säätely tapahtuu keskushermoston alaisuudessa sekä erilaisten refleksikaarien kautta. Hermoston kanssa tiiviissä yhteistyössä toimii hormonaalinen eli endokriininen järjestelmä. Nämä säätelijät vaikuttavat monin tavoin myös toisiinsa. Säätelyjärjestelmien avulla terve elimistö pystyy muuttamaan toimintojaan joustavasti ja mukautumaan erilaisiin tilanteisiin. Kuitenkin säätelyjärjestelmien välinen tasapaino on herkkä ja sen pitkäaikainen häiriö johtaa usein sairastumiseen (Tracey 2002).

Sydämen ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston toiminnan häiriöt ovat yhteydessä moniin sairauksiin, kuten erilaisiin sydänsairauksiin ja korkeaan verenpaineeseen (Task force 1996). Diabetekseen liittyy yleensä jo sairauden varhaisvaiheessa muutoksia sympaattisen ja parasympaattisen hermoston toiminnassa (Task force 1996, Schroeder ym. 2005). Ylipainoisille on ominaista korostunut sympaattisen hermoston toiminta, jolloin sen aktivoituminen on puolestaan heikentynyt (Snitker ym. 2000, Tentolouris ym. 2006). Lisääntynyt sympaattisen hermoston aktiivisuus on liitetty myös tulehdusmekanismeihin sekä metaboliseen oireyhtymään (Tracey 2002, Tentolouris ym. 2006).

Autonomisen hermoston toimintaa on tutkittu mm. määrittämällä verestä ja virtsasta autonomisen hermoston välittäjäaineiden pitoisuuksia tai mittaamalla suoraan luurankolihasien hermojen aktivaatioita (Snitker ym. 2000, Hilz ja Dutsch 2006). Sydämen sykevälivaihtelun sekä verenpainemuutosten tutkiminen ovat 1990-luvun puolenvälin jälkeen yleistyneet sydän- ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston säätelyn tutkimusmenetelminä (Task force 1996).

Sykevälivaihtelun avulla mitattavaan sydämen autonomisen hermoston säätelyyn vaikuttavat lukuisat tekijät, kuten ikä, sukupuoli, kehon koostumus ja fyysinen harjoittelu (Paolisso ym. 1997, Paolisso ym. 2000, Aubert ym. 2003, Tentolouris ym. 2003, Antelmi ym. 2004, Sandercock ym. 2005, Schroeder ym. 2005). Myös ravinnolla on sekä pitkäaikaisia että välittömiä vaikutuksia sykevälivaihteluun. Ravitsemus saattaakin olla yksi autonomisen hermoston terveyteen liittyvistä elintapatekijöistä, joihin ihminen itse voi vaikuttaa.

Ruokailun jälkeinen veren glukooseipitoisuuden suureneminen eli hyperglykemia aiheuttaa terveinkin elimistön tasapainon järkkymistä vaikuttamalla monin tavoin mm. sydän- ja verenkiertoelimistöön (Ceriello 2005). Ravinnon hiilihydraattien tiedetään aktivoivan välittömästi

sympaattista hermostoa (Paolisso ym. 1997, Paolisso ym. 2000, Weissman ym. 2006). Tutkimalla ravinnon välittömiä vaikutuksia autonomisen hermoston toimintaan, voidaan löytää uusia ravinnon yhteyksiä sairauksiin ja toisaalta terveyteen.

Tämän pro gradu työn tavoite on kehitellä ja testata tutkimusmalli, jolla pystytään tutkimaan aterian välittömiä vaikutuksia sydämen autonomisen hermoston säätelyssä. Tässä tutkimuksessa tutkittiin mahdollisia eroja glukoosiliuoksen, kahden laimeamman hiilihydraattijuoman sekä veden vaikutuksissa sykevälivaihteluun ja verenpaineeseen.

2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Autonominen hermosto

Autonominen hermosto säätelee tahdosta riippumattomia elimistön toimintoja. Toiminnallisista ja anatomisista syistä se jaetaan kahteen osaan, sympaattiseen ja parasympaattiseen hermostoon. Yleensä sympaattinen hermosto aktivoi ja parasympaattinen hillitsee kohde-elintä. Suurimpana poikkeuksena tästä ovat hikirauhaset, rasvakudos sekä verisuonet, joihin johtaa ainoastaan sympaattisia hermopäätteitä (Snitker ym. 2000). Toisaalta ruoansulatuselimistöä aktivoi parasympaattinen hermosto (Guyton ja Hall 2006). Elinten autonominen säätely tapahtuu yleensä muutoksina niihin kohdistuvien sympaattisten ja parasympaattisten hermojen aktivaatioiden suhteissa. Autonomisen hermoston puoliskojen tasapainoinen yhteistoiminta onkin tärkeää elintoimintojen kannalta (Tracey 2002).

Sympaattiseen hermoston toimintaan liittyy läheisesti myös lisämunuaisen ydin (Guyton ja Hall 2000, Tentolouris ym. 2006). Sinne johtaa sympaattisia hermoja ja aktivoituessaan se erittää verenkiertoon noradrenaliinia ja adrenaliinia. Tämä aiheuttaa elimistössä yleisen sympaattisen aktivaation. Esimerkiksi vaaratilanteissa se valmistaa ihmisen ”taistelemaan tai pakenemaan”. Tavallisesti autonomisen hermoston säätely kuitenkin kohdistuu tiettyyn elimeen aiheuttamatta reaktiota muualla elimistössä.

Autonomisten hermojen viejähaarakkeet lähtevät selkärangan hermorungossa sijaitsevista hermotumakkeista eli ganglioista. Sympaattiset hermosolut muodostavat melko lähellä selkärankaa hermosoluliitoksen eli synapsin varsinaiseen kohde-elimeen menevän hermosolun kanssa.

Sympaattisen hermoston viejähaarakkeen yleisimpänä välittäjäaineena on asetyylikoliini ja kohde-elimeen vaikuttavassa viejähaarakkeessa yleensä noradrenaliini (Guyton ja Hall 2006).

Parasympaattisen hermorungon hermot muodostavat synapsin vasta kohde-elimessä tai hyvin lähellä sitä. Parasympaattisena välittäjäaineena toimii yleensä asetyylikoliini.

2.1.1 Autonomisen hermoston tutkimusmenetelmät

Autonominen hermosto toimii yhteistyössä keskushermoston ja hormonijärjestelmän kanssa. Autonomisen hermoston toiminnan tutkiminen on haastavaa, koska sitä ei täysin voida erottaa elimistön muista säätelyjärjestelmistä. Ihmisen elimistön tai tietyn elimen parasympaattisen ja sympaattisen säätelyn suora mittaaminen on vaikeaa. Elimistön autonomiselle säätelylle ei ole myöskään aivan yksiselitteistä ja helposti mitattavaa vastetta tai merkkiainetta. Kuitenkin muutamit tutkimusmenetelmät antavat suuntaa autonomisen hermoston säätelystä.

Lihaksen mikroneurografia mittaa lihaksen ja sen verisuoniston sympaattisen hermoston aktivaatiota. Mittauksessa pienen neulamaisen anturin avulla mitataan luurankolihasen hermoissa tapahtuvia sympaattisen hermoston sähköisiä aktivaatiosykhädyksiä (Hilz ja Dutsch 2006). Mikroneurografialla mitattava aktivaatio on yhteydessä lihasten verisuonien supistumiseen (Snitker ym. 2000).

Yleistä sympaattista aktivaatiota elimistössä voidaan epäsuorasti mitata määrittämällä sympaattisesta hermopäätteestä plasmaan päätyvän ylimääräisen noradrenaliinin pitoisuus tai tutkimalla merkkiaineiden avulla noradrenaliinin kulkeutumista elimistössä (Snitker ym. 2000). Lihaksen mikroneurografia ja autonomisen hermoston välittäjäainemittaukset tehdään erilaisten neulojen avulla elimistön sisältä. Menetelmät ovat kalliita ja aikaavieviä. Niillä pystytään arvioimaan ainoastaan elimistön sympaattista säätelyä, mutta ei lainkaan parasympaattisen hermoston toimintaa.

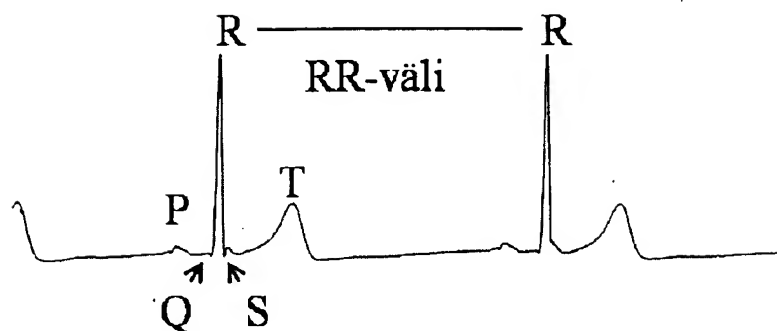
Sydämen autonomisen hermoston säätelyn arviointimenetelmiksi ovat yleistyneet sydämen sykevälivaihtelun (myöhemmin sykevaihtelu) analysoiminen yhdessä verenpainemittausten kanssa. Mittaukset tapahtuvat ihon päältä. Lisäksi ne ovat tutkittavalle harmittomia ja melko nopeita mittauksia. Sykevaihtelun ja verenpainemuutostietojen analysointi ja tulkinta ovat sitä vastoin vielä haasteellisia. Näillä tutkimusmenetelmillä saadaan kuitenkin runsaasti tietoa sydämen autonomisen hermoston säätelyn tilasta ja siihen vaikuttavista tekijöistä.

Sykevaihtelun ja verenpaineen mittaus- ja analyysitekniikat mahdollistavat erilaiset sydämen ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston toimintatestit (Hilz ja Dutsch 2006). Testejä on lukuisia, niistä osa on käytössä kliinisessä diagnostiikassa, ja osa vain tutkimuskäytössä. Autonomisen hermoston toimintatesteissä aiheutetaan ulkoinen ärsyke sydämelle ja verenkiertoelimistölle, jonka jälkeen mitataan autonomisen hermoston herkkyyttä palauttaa tasapainotila elimistöön. Testien luonteesta riippuen ärsyke kohdistuu sydämen parasympaattiseen tai sympaattiseen säätelyyn tai molempiin. Testeissä ärsyke aiheuttaa yleensä muutoksia verenpaineeseen tai veren jakautumiseen kehossa. Valsalva-testissä ärsykkeenä toimii painetta vastaan puhaltaminen ja ortostaattisessa kokeessa asennon muuttaminen makuulta seisoimaan. Nämä testit testaavat sydämen ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston säätelyjärjestelmää kokonaisuudessaan. Käden puristusvoimatesti mittaa pääosin sympaattisen säätelyn tehokkuutta ja syvähengitystesti puolestaan parasympaattista säätelyä.

2.2 Sydämen rakenne, toiminta ja sydänsähkökäyrä

Sydän koostuu oikeasta ja vasemmasta eteisestä ja kammioista. Sydämen toimintakiertoon kuuluvat toisiaan seuraavat supistumis- ja veltostumisvaiheet eli systole ja diastole (Guyton ja Hall 2006). Eteiset ovat toimintakierrossa hiukan kammioita edellä. Diastolen aikana veri palautuu ääreisverenkierrosta ylä- ja alaonttolaskimon kautta oikeaan eteiseen. Oikean eteisen supistuessa veri ajautuu oikeaan kammioon ja edelleen oikean kammion supistuessa keuhkoverenkiertoon hapettumaan. Happipitoinen veri palautuu keuhkolaskimon ja sydämen vasemman eteisen kautta vasempaan kammioon. Sieltä veri puristuu vasemman kammion systolen aikana aorttaan ja edelleen aina pienimpiin ääreisverenkierron valtimoihin. Valtimoiden ja laskimoiden välissä sijaitsevat hyvin ohutseinäiset hiussuonet, joiden kautta happipitoinen valtimoveri kulkeutuu kudoksiin. Aineenvaihdunnan lopputuotteita sisältävä veri puolestaan kulkeutuu kudoksista laskimoihin ja sieltä edelleen kohti sydäntä ja keuhkoja.

Sydämen toimintakierto perustuu sydänlihaksessa eteneviin sähköisiin impulsseihin. Sydämen oikean kammion seinämässä sijaitsee itsenäisesti lihaksen rytmisen supistumisen aiheuttava sinussolmuke (Guyton ja Hall 2006, McArdle ym. 2006). Sinussolmukkeesta impulssit kulkevat sydänlihaksessa tiettyjä erikoistuneita johtoratoja pitkin. Johtoradat mahdollistavat sydämen osien oikea-aikaisen supistumisen. Elimistön elektrolyyttejä sisältävät nesteet johtavat sydänperäisiä sähköimpulsseja eri puolille kehoa. Tätä käytetään hyväksi sydänsähkökäyrässä eli elektrokardiografiassa (EKG), jonka avulla tutkitaan sydämen toimintaa ihon pinnalle asetettavien elektrodien avulla (McArdle ym. 2006). Elektrokardiogrammista voidaan erottaa sydämen systolen ja diastolen eri vaiheita (kuva 1).



Kuva 1. Sydämen toimintakierto EKG:ssä.

P- aalto: kummankin eteisen supistumista kuvaava sähköinen heilahdus, PQ-väli: impulssin eteneminen eteisistä kammioihin, QRS-kompleksi: kammioiden supistumista kuvaava sähköinen heilahdus, ST-väli: kammiot pysyvät supistuneina, T-kompleksi: kammioiden sähköisen lepojännitteen palautuminen, RR-väli: peräkkäisten R-aaltojen huippukohtien etäisyys toisistaan (Mukaeltu: Guyton ja Hall 2006, McArdle ym. 2006).

2.3 Autonominen hermosto ja sydän

Sydämen toimintaa säätelevät monet tekijät, kuten hormonit ja laskimoista palautuva verimäärä eli laskimopaluu. Tärkein säätelijä on kuitenkin aivojen vasomotorinen keskus. Se sijaitsee aivojen ydinjatkeen ja aivosillan alueella. Vasomotorisen keskuksen tarkka toiminnallinen jakautuminen on edelleen epäselvä, mutta sen arvellaan koostuvan erilaisista verenkiertoa ja sydämen toimintaa säätelevistä alueista (Snitker ym. 2000, Guyton ja Hall 2006, McArdle ym. 2006).

Vasomotorisen keskuksen sydämen toimintaa hillitsevästä osasta lähtevät keskushermostosta elimiin signaaleja vievät eli efferentit parasympaattiset hermot. Suurin osa näistä hermoista kulkee kymmenennen aivohermon eli kiertäjähieron (engl. vagus nerve) yhteydessä. Sydämessä ne leviävät eteisten sinus- ja eteiskammiosolmukkeisiin (Guyton ja Hall 2006). Parasympaattinen hermosto vaikuttaa normaalissa lepotilassa sydämeen jatkuvasti. Se hidastaa asetyylikoliinin välityksellä sinussolmukkeen lähettämän impulssin etenemistä eteiskammiosolmukkeesta kammiolihakseen. Näin kammioiden supistuminen viivästyy. Ilman parasympaattista säätelyä sydämen luonnollinen rytmi olisi levossa istuma-asennossa keskimäärin noin 110 lyöntiä minuutissa nykyisen noin 60 lyönnin sijaan (Opthof 2000). Sydämen sykkeen hidastamisen lisäksi parasympaattisen säätelyn tehostuminen vähentää hiukan sydämen kerralla valtimoihin pumppaamaa verimäärää eli iskutilavuutta.

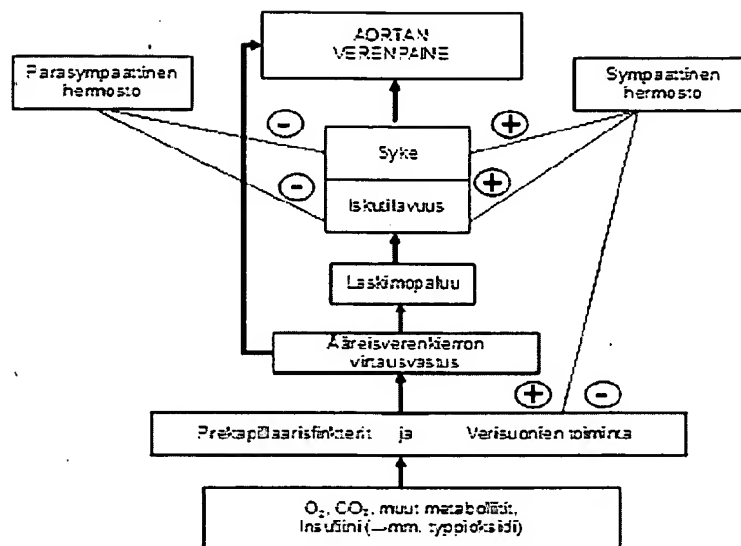
Sydämen toimintaa kiihdyttävät efferentit sympaattiset hermot lähtevät vasomotorisen keskuksen sydäntä aktivoivasta osasta. Näitä hermoja johtaa kaikkialle sydänlihakseen, myös kammioihin (Guyton ja Hall 2006). Myös sympaattinen hermosto vaikuttaa sydämessä jatkuvasti, sen aktivaation lisääntyminen lisää sinussolmukkeesta lähtevien supistumiskäskyjen tiheyttä. Sympaattinen aktivaatio myös parantaa impulssien kulkua koko sydämen alueella ja lisää sydämen supistumisvoimaa.

Sydämen toimintaan vaikuttavat siis sydäntä säätelevien parasympaattisen ja sympaattisen hermostojen aktiivisuuksien muutokset. Näitä muutoksia voidaan mitata sykevaihtelua analysoimalla (Task force 1996).

2.4 Verenpaine ja sen säätely

Suuressa verenkierrossa systolen aikana veri puristuu sydämen vasemmasta kammiosta aorttaan. Veri ei etene halkaisijaltaan pienemmissä valtimoissa yhtä nopeasti, joten aortan seinämä venyy aiheuttaen painetta suoneen (Guyton ja Hall 2006, McArdle ym. 2006). Systolisen valtimoverenpaineen suuruuden määrittävät valtimosuoniston kokonaisvastus sekä aorttaan pumpattavan veren määrä (kuva 2). Sydäimestä lähtevän veren määrä riippuu sydämen lyöntitiheydestä ja iskutilavuudesta.

Verisuoniston kokonaisvastusta sekä sydämeen laskimoista palautuvan veren määrää säätelevät muutokset ääreisverenkierron suoniston supistumisessa. Suonien supistumiseen vaikuttaa monimutkainen säätelyverkosto. Kudostasolla verisuonia säätelevät kudosten happitilanne sekä aineenvaihduntatuotteiden, kuten hiilidioksidin pitoisuudet. Insuliinilla puolestaan on verisuonia laajentava vaikutus ainakin typpioksidin lisääntyneen tuoton kautta (kuva 2) (Guyton ja Hall 2006). Sympaattinen hermosto puolestaan muuttaa verisuonten seinämien perusjännitystä, jolloin suoni tarpeen mukaan laajenee tai supistuu (Snitker ym. 2000, Guyton ja Hall 2006).



Kuva 2. Verenpaineeseen vaikuttavat seikat pääpiirteittäin.

Kuvassa ei ole mukana veren kokonaismäärän säätelyä. Sydämen syke, iskuilavuus ja ääreisverenkierron virtausvastus määrittävät aortan verenpaineen. Sympaattinen ja parasympaattinen hermosto säätelevät sydämen toimintaa, sympaattinen hermosto säätelee lisäksi ääreisverenkierron virtausvastusta säätelemällä verisuonien läpimittaa.

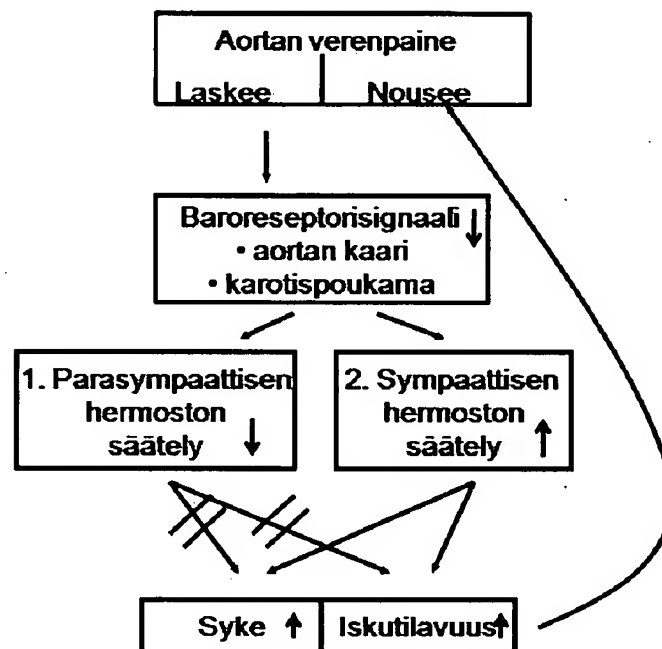
+ = aktivoiva vaikutus, - = hillitsevä vaikutus, O_2 = happipitoisuus, CO_2 = hiilidioksidipitoisuus (Mukaeltu: Snitker ym. 2000, Guyton ja Hall 2006, McArdle ym. 2006).

2.5 Barorefleksi – sydämen toimintaa säätelevä refleksi

Sydäntä käskyttävän aivojen vasomotorisen keskuksen säätely on monimutkaista. Aivoissa kiertävän veren happi- ja glukoosipitoisuudet sekä tunteisiin liittyvät aivojen ”korkeammat alueet” säätelevät vasomotorisen keskuksen kautta sydäntä. Myös muualla elimistössä olevat erilaiset reseptorit välittävät aivoihin tietoa verenkierron tilasta (Guyton ja Hall 2006, McArdle ym. 2006). Tällaisia reseptoreita sijaitsee mm. sydämessä ja suurissa suonissa. Ne reagoivat veren mekaaniseen kosketukseen tai veren kemialliseen koostumukseen, kuten hiilidioksidi-, happi- ja vetyionipitoisuuksiin.

Kaulavaltimon haarautumiskohdan eli karotisjoukon ja aortan kaaren paine- eli baroreseptorit välittävät tietoa verenpaineesta keskushermostoon (Guyton ja Hall 2006). Vasomotorinen keskus ylläpitää sydämeen jatkuvaa parasympaattista perussäätelyä. Verenpaineen laskiessa äkisti rinnan alueen ja kaulan suurissa valtimoissa, kuten noustaessa makuulta seisomaan, baroreseptoreiden aivoihin lähettämä signaali heikkenee. Tämä saa vasomotorisen keskuksen vähentämään sydämeen

kohdistuvaa parasympatikusaktivaatiota, jolloin sympatikusvaikutus muuttuu vallitsevammaksi (kuva 3) (Aubert ym. 2003). Barorefleksi nostaa näin verenpainetta lisäämällä sydämen sykettä ja lyöntitilavuutta. Se myös lisää ääreisverenkierron vastusta suonia supistamalla (Boer de ym. 1987, Raven ym. 2000). Refleksi toimii päinvastoin verenpaineen noustessa äkillisesti. Barorefleksi turvaa riittävän verenkierron kaikkialle kehoon ja eri elimiin fyysisessä rasituksessa, asennon vaihtuessa tai muissa verenpainetta muuttavissa tilanteissa (Guyton ja Hall 2006).



Kuva 3. Barorefleksin toiminta.

Aortan verenpaineen laskiessa baroreseptorisignaali aivoihin heikkenee. Parasympaattisen hermoston aktivaatio sydänlihakseen vähenee nopeasti. Sydämen syke kiihtyy ja iskutilavuus suurenee, jotta verenpaineen lasku saadaan korjattua. Sympaattinen hermosto aktivoituu myöhemmin. Se lisää myös ääreisverenkierron virtausvastusta (ei kuvassa). (Mukaeltu: Boer de ym. 1987, Berne ym. 1997, Raven ym. 2000, Aubert ym. 2003, Guyton ja Hall 2006, Weissman ym. 2006). ↑ = Aktivaatio tai toiminta tehostuu, ↓ = Aktivaatio tai toiminta heikkenee, // = Vaikutus estyy

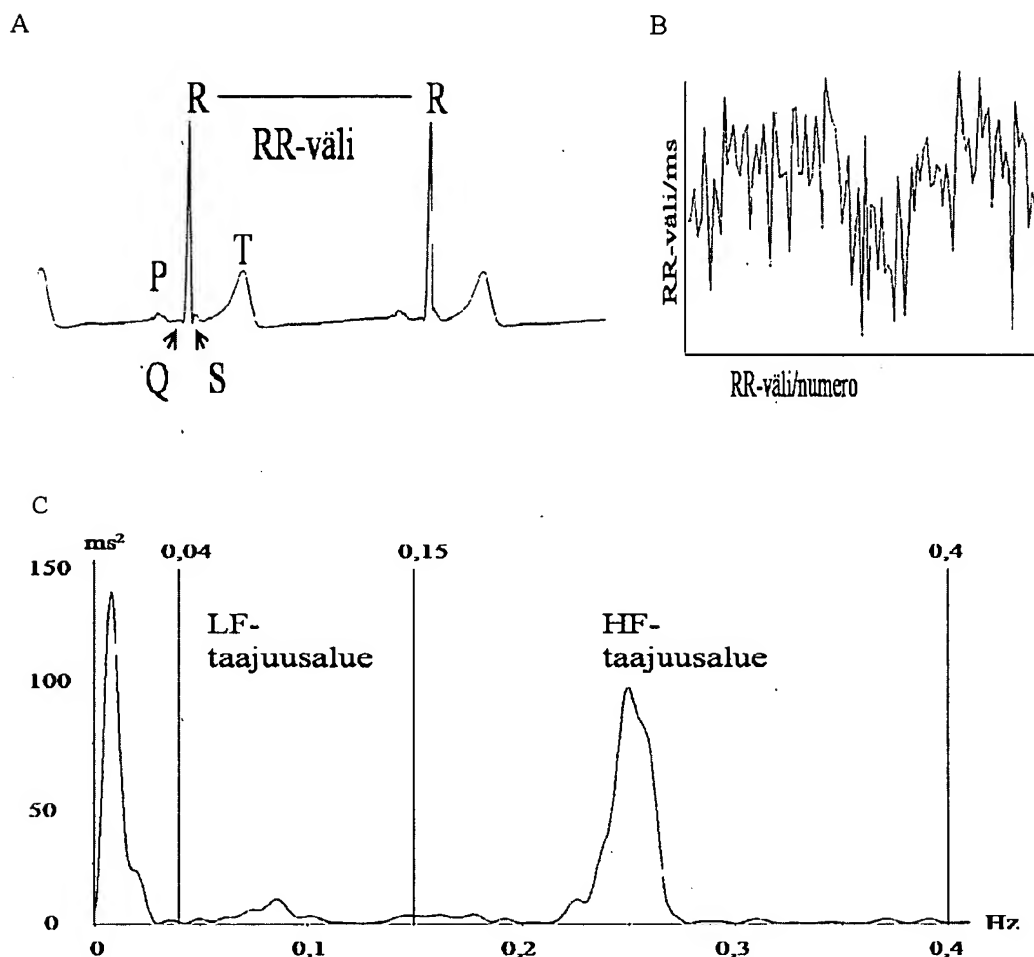
2.6 Sykevaihtelun mittaaminen ja analysointi

Sydämeen kohdistuvaa autonomisen hermoston säätelyä voidaan arvioida mittaamalla ja analysoimalla sykevaihtelua EKG:ssa näkyvien R-aaltojen huippukohtien ajallisia etäisyyksiä (myöhemmin RR-välit) (kuva 4) (Task force 1996). RR-välien kestoissa tapahtuu sydämen autonomisesta säätelystä johtuvia millisekuntien luokkaa olevia muutoksia. Muutokset ovat niin pieniä, etteivät ne välttämättä vaikuta mitattavaan sykkeeseen.

Sydämen sykevaihtelua analysoidaan EKG:stä tai tarkoitukseen sopivan sykevyön tai sykemittarin tallentamista syketiedoista. Rekisteröintiajan pituus vaikuttaa sykevaihtelumuuttujien arvoihin, joten eripituiset mittaukset eivät ole keskenään vertailukelpoisia. Usein tutkimuksissa käytetään kahden tai viiden minuutin mittauksia tai vaihtoehtoisesti 24 tunnin vuorokausirekisteröintiä (Task force 1996).

Sykevaihtelua analysoidaan joko aika-analyyseillä ajan suhteen tai taajuustarkasteluanalyyseillä etsimällä signaalista rytmisiä vaihteluja RR-välien kestoissa (Malliani ym. 1991, Task force 1996). Peräkkäisten RR-välien kestoista muodostetaan takogrammi, jonka avulla analyysit tehdään (kuva 4). Aikaan perustuvissa analyyseissä lasketaan tilastollisia muuttujia RR-välien kestoista sekä näiden kestojen eroista. Taajuustarkastelu puolestaan perustuu RR-välien kestoissa tapahtuvien muutosten toistumiseen tietyllä tiheydellä eli frekvenssillä. Kerran sekunnissa (1/s) toistuvan ilmiön taajuus on yksi hertsi (Hz). Sykevaihtelun taajuustarkastelua varten on asetettu tietyt taajuusalueet, joiden suhteen tarkastellaan kokonaisvaihtelun jakautuneisuutta (kuva 4). Taajuustarkastelu voidaan suorittaa erilaisin matemaattisin mallein, esimerkiksi Fast Fourier Transformation -menetelmällä (Task force 1996, Aubert ym. 2003).

Aika- ja taajuustarkastelut ovat käyttökelpoisia analyysimenetelmiä rinnakkain, koska ne antavat yhdessä kokonaisvaltaisemman kuvan sydämen autonomisesta säätelystä. Sykevaihtelua pystytään analysoimaan näiden lisäksi muillakin matemaattisilla malleilla. Niistä osa perustuu kaaosteoriaan ja mitattavien ilmiöiden epälineaarisuuteen (Task force 1996, Aubert ym. 2003, Sandercock ja Brodie 2006).



Kuva 4. Sykevaihtelun analysointi ja sykevaihtelun taajuustarkastelun taajuusalueet. RR-välien kestot mitataan EKG:n avulla (A). Vierekkäisten RR-välien kestot näkyvät takogrammissa, joista sykevaihtelun aika-analyysit tehdään (B). Takogrammissa näkyvät myös tietyin aikavälein toistuvia eroja RR-välien kestoissa, joita tarkastellaan spektrianalyysissä niiden taajuuksien perusteella (C). (C) Sykevaihtelun taajuustarkastelun taajuusalueet: LF-taajuusalue eli matala taajuus (engl. low frequency, LF) sijoittuu taajuudelle 0,04 – 0,15 Hz ja HF-taajuusalue eli korkea taajuus (engl. high frequency, HF) taajuudelle 0,15 – 0,4 Hz. Kuvassa ei ole eroteltu harvemmin analysoitavia ns. ULF-taajuusalueetta eli ultramatalaa taajuutta (engl. ultra low frequency, ULF), joka sijoittuu alle 0,003 Hz:n taajuusalueelle eikä ns. VLF-taajuusalueetta eli erittäin matalaa taajuutta (engl. very low frequency, VLF), jonka taajuus on 0,003 – 0,04 Hz (mukaeltu: Task force 1996).

2.7 Sykevaihtelumuuttujien fysiologiset taustat

2.7.1 Aikatarkastelu

Sykevaihtelun vuorokausirekisteröinneistä pystytään analysoimaan pidempiin aikaväleihin perustuvia muuttujia kuin lyhyissä mittauksissa. Lyhyissä, kahden tai viiden minuutin sykevälirekisteröintien aikatarkasteluanalyyseissä yksi käytetyin muuttuja on RR-välien kestojen keskihajonta (engl. standard deviation of the NN intervals, SDNN) (Aubert ym. 2003). SDNN-muuttuja kuvaa niitä kaikkia määrävälein toistuvia sydän- ja verenkiertoelimistöön vaikuttavia ilmiöitä, jotka aiheuttavat sykevaihteluanalyyseissä hajontaa eli vaihtelua (Task force 1996). Suuri SDNN-arvo kuvaa yleensä sydämen tehokasta autonomisen hermoston säätelyä.

Parasympaattisen säätelyn aiheuttamaa vaihtelua RR-väleissä kuvaa peräkkäisten sykevälien erotuksen toisen potenssin summan neliöjuuri (engl. square root of the mean squared differences of successive NN intervals, RMSSD) (Task force 1996). Toinen parasympaattista säätelyä kuvaava muuttuja on pNN50, joka tarkoittaa sellaisten peräkkäisten RR-välien osuutta kaikista mittauksen RR-väleistä, joiden kestojen erot ovat yli 50 millisekuntia (ms).

Parasympaattinen säätelyn lisääntyminen sydänlihaksessa pidentää RR-välien kestoja ja lisää sykevaihtelua. Useiden lähteiden mukaan parantunut fyysinen suorituskky pidentää lepotilassa RR-välien kestoja hidastamalla sykettä ja se saattaa lisätä myös sykevaihtelua (Task force 1996, Sandercock ym. 2005, Albert ym. 2003, Sandercock ja Brodie 2006). Toisaalta iän myötä RR-välien kestot pitenevät, vaikka parasympaattinen säätely sydämeen heikkenee (Schroeder ym. 2005). Ainakin yksi syy tähän on ikääntyessä hidastuva sydämen sinussolmukkeen säätelemä supistusrytmi (Ophof 2000). Sydämen parasympaattisen säätelyn väheneminen on yhteydessä ikääntymisen lisäksi ainakin diabetekseen ja lihavuuteen (Paolisso ym. 2000, Antelmi ym. 2004, Schroeder ym. 2005, Weissman ym. 2006). Sykevaihtelumuuttujien tulkinta ei ole siis täysin yksiselitteistä ja johtopäätösten tekemiseksi sydämen autonomisen hermoston säätelystä sykevaihtelumuuttujia on analysoitava useita.

2.7.2 Taajuustarkastelu eli taajuusspektrianalyysi

Sykevaihtelun matala taajuusalue (engl. low frequency, LF) on 0,04 - 0,15 Hz. Nykyisen käsityksen mukaan LF-taajuusalueelle sijoittuva sykevaihtelu kuvaa sympaattisen sekä osittain myös parasympaattisen hermoston osuutta sydämen autonomisen hermoston säätelystä (Task force 1996, Aubert ym. 2003). Sen sijaan sykevaihtelun sijoittumista korkealle taajuusalueelle (engl. high frequency, HF) (0,15 - 0,4 Hz) pidetään yleisesti yhtenä parasympaattisen hermoston sydämeen kohdistuvan säätelyn mittarina (Cohen ja Taylor 2002, Weissman ym. 2006). Sykevaihtelun sijoittumisessa HF-taajuusalueelle nähdään hengitysrytmän aiheuttamat vaikutukset sydämen säätelyyn. Hengitys aiheuttaa kiertäjähermon kautta epäsäännöllisyyttä sinussolmukseen lähettämään supistumisimpulssiin (Berne ym. 1997, Cohen ja Taylor 2002). Sisäänhengitettäessä verenpaine ja syke nousevat, uloshengitettäessä ne laskevat. Tätä saattavat selittää hengitysvaihteluiden aiheuttamat rintakehän sisäisten paineiden muutokset tai hengityksen säätelyyn liittyvät hermostolliset aktivaatiot, mutta ilmiön tarkkaa mekanismia ei vielä tunneta (Cohen ja Taylor 2002).

Sydämen syketiheys vaikuttaa epälineaarisesti sykevaihtelun taajuustarkasteluun (Bilchick ja Berger 2006). Lisäksi sykevaihtelussa tapahtuvat muutokset erittäin matalataajuuksisella alueella (engl. very low frequency, VLF), joita lyhyistä sykevaihtelurekisteröinneistä ei pystytä tarkasti määrittämään, muuttavat sykevaihtelun arvoja muilla taajuusalueilla. LF- ja HF-taajuusalueille sijoittuvan sykevaihtelun normalisointi vähentää näitä vaikutuksia (Task force 1996, Sandercock ja Brodie 2006). Normalisoitu sykevaihtelu LF-taajuusalueelle (engl. normalized low frequency unit, LFnu) lasketaan kaavalla $LFnu = LF / (kokonaisvaihtelu - VLF)$, jossa LF on sykevaihtelu LF-taajuusalueella ja VLF vastaavasti sykevaihtelu VLF-taajuusalueella. Normalisoitu vaihtelu HF-taajuusalueelle (engl. normalized high frequency unit, HFnu) lasketaan vastaavalla tavalla kaavalla $HFnu = HF / (kokonaisvaihtelu - VLF)$, jossa HF on sykevaihtelu HF-taajuusalueella ja VLF sykevaihtelu VLF-taajuusalueella.

Sykevaihtelun jakautumisen suhdetta LF- ja HF-taajuusalueille (LF:HF-suhde) käytetään toisinaan tutkimusraporteissa selvittämään sydämen sympaattisen ja parasympaattisen säätelyn tasapainoa. Suhteen ollessa suuri sympaattinen hermosto vaikuttaa sydämeen parasympaattista enemmän. Pieni suhde viittaa parasympaattisen hermoston säätelyn olevan vallitsevampi. Tämä käsitys on kuitenkin saanut kritiikkiä osakseen, koska sympaattisen ja parasympaattisen säätelyn vaikutukset toisiinsa sekä LF-taajuusalueeseen ovat hyvin monimutkaisia, eikä niitä tunneta tarkasti (Berne 1997, Eckberg 2000).

Kokonaissykevaihtelun sijoittuminen taajuustarkastelun LF- ja HF-taajuusalueille kuvaa sydämen säätelyn jakautumista autonomisen hermoston puoliskoien kesken, vaikka puoliskoien tarkat osuudet LF-taajuusalueen arvosta eivät ole vielä selvillä. Taajuustarkastelun suuri kokonaisvaihtelu kertoo sydämen autonomisen hermoston runsaasta aktiivisuudesta, mutta oleellisempia ovat yleensä LF- ja HF-taajuusalueiden arvot ja niiden suhde toisiinsa.

Vielä ei tarkoin tiedetä, mitä sykevaihtelun sijoittumiset ultramatalalle taajuusalueelle (engl. ultra low frequency, ULF), joka on alle 0,003 Hz ja VLF-taajuusalueelle, joka on 0,003 - 0,04 Hz, fysiologisesti kuvaavat. VLF-taajuusalueen sykevaihtelu saattaa olla yhteydessä mm. lämmönsäätelyyn (Berne 1997). Sykevaihtelun sijoittumisen luotettava mittaaminen VLF- ja ULF-taajuusalueille vaatii kuitenkin pitkän rekisteröintiajan, koska taajuusalueiden yhden syklin kesto on jopa yli viisi minuuttia. Alle vuorokauden pituisista mittauksista sykevaihtelu hyvin matalalla taajuusalueella yleensä poistetaan laskennallisesti normalisoinnin avulla ”taustana” ja häiriönä (Task force 1996). Yhteenveto sykevaihtelumuuttujien fysiologisista merkityksistä on taulukossa 1.

Taulukko 1. Opinnäytetyössä käytetyt sykevaihtelumuuttujat, niiden lyhenteet ja fysiologiset merkitykset sydämen toiminnan säätelyn kannalta. Taulukossa ei ole mukana normalisoituja sykevaihteluita HF- ja LF-taajuusalueilla.

Sykevaihtelumuuttuja	Lyhenne	Fysiologinen merkitys
Aikamuuttujat		
RR-välien keskihajonta	SDNN	Parasympaattisen ja sympaattisen säätelyn voimakkuus yhdessä
Peräkkäisten sykevälien erotuksen toisen potenssin summan neliöjuuri	RMSSD	Parasympaattisen säätelyn voimakkuus
Peräkkäisten sykevälien osuus, joiden kestoissa eroa yli 50 ms	pNN50	Parasympaattisen säätelyn voimakkuus
Taajuusmuuttujat		
Kokonaissykevaihtelu		Parasympaattisen ja sympaattisen säätelyn voimakkuus
Korkeataajuuksisen alueen sykevaihtelu	HF-taajuusalue	Parasympaattisen säätelyn voimakkuus
Matalataajuuksisen alueen sykevaihtelu	LF-taajuusalue	Sympaattisen ja osittain parasympaattisen säätelyn voimakkuus
Matalataajuuksisen suhde korkeataajuuksisen alueen sykevaihteluun	LF:HF-suhde	Sympaattisen ja parasympaattisen säätelyn voimakkuuksien suhde (kiistanalainen)

2.8 Sykevaihteluun ja verenpaineeseen vaikuttavat tekijät

2.8.1 Mittaustilanteeseen liittyvät seikat

Etenkin sykevaihtelun taajuustarkasteluja analysoidessa hengityksen tiheys on tärkeä taustamuuttaja. Hengityksen vaikutus sykevaihteluun välittyy parasympaattisen hermoston kautta ja näkyy vaihtelun sijoittumisena HF-taajuusalueelle. Hengitystiheyden ollessa minuutissa yhdeksän tai alle, sen vaikutus näkyy kuitenkin vaihtelun sijoittumisessa LF-taajuusalueelle (Berne ym. 1997, Pitzalis ym. 1998). Hengitystiheyden lisäksi hengityksen syvyys saattaa muuttaa sykevaihtelutuloksia (Pitzalis ym. 1998, Parati ja Di Rienzo 2003).

Psyykkiset tekijät vaikuttavat sydämen autonomiseen säätelyyn (Parati ja Di Rienzo 2003). Stressi, väsyneisyys sekä tunteet, kuten hermostuneisuus, muuttavat sykevaihteluarvoja. Sykevaihtelun mittaaminen vaatii erittäin häiriöttömän ympäristön ja tutkittavan kannalta psyykkisesti stressittömän tilanteen. Asento muuttaa veren jakautumista kehossa, ja vaikuttaa siten sykevaihtelumittaukseen. Ruoalla, juomalla, tupakoinnilla, kofeiinin nauttimisella, fyysisellä aktiivisuudella ja useilla lääkkeillä on sekä pitkäaikaisia että välittömiä vaikutuksia sykevaihtelutuloksiin (Parati ja Di Rienzo 2003).

2.8.2 Sukupuoli, hormonit ja ikä

Naisten ja miesten välillä on eroa autonomisen hermoston aktiivisuuksissa. Sukupuolten väliset erot näkyvät myös sykevaihteluanalyyseissä (Aubert ym. 2003, Antelmi ym. 2004). Ainakin naissukupuolihormonien toiminnalla on suoria vaikutuksia autonomisen hermoston toimintaan. Kuukautiskierron vaiheen on todettu vaikuttavan sympaattisen hermoston aktivaatioon lepotilassa ja autonomisen hermoston reseptoreiden aktivaatioherkkyyteen (Minson ym. 2000, Hirshoren ym. 2002). Kuukautiskierron vaiheen vaikutus ravinnon aiheuttamiin autonomisen hermoston vasteisiin on vielä epäselvä. Kuitenkin kaikissa autonomisen hermoston aktiivisuutta ja toimintaa tarkastelevissa tutkimusasetelmissä hedelmällisessä iässä olevilla naisilla on aiheellista vakioda kuukautiskierron vaihe. Sukupuolihormonien lisäksi ainakin katekolamiini- ja kilpirauhashormonipitoisuudet vaikuttavat sykevaihtelutuloksiin (Parati ja Di Rienzo 2003).

Iän myötä heikkenevä autonomisen hermoston toiminta on nähtävissä sykevaihtelussa (Paolisso ym. 2000, Antelmi ym. 2004, Schroeder ym. 2005). Yhdeksän vuoden seurannassa aikuisilla mitatut sykevaihtelun aikamuuttujien SDNN- ja RMSSD-arvot pienentyivät vuosittain, sen sijaan RR-välien kestot pitenivät (Schroeder ym. 2005). Sykevaihtelumuutokset viittasivat etenkin sydämen parasympaattisen hermoston säätelyn heikkenemiseen. Ikä liittyy myös ravinnon ja sykevaihtelun yhteyksiin. Tutkimuksessa glukoosiannoksen vaikutukset vanhusten autonomisen

hermoston aktivaatioon heikkenivät iän myötä (Paolisso ym. 2000). Tutkituilla yli satavuotiailla 75 gramman glukoosiannoksen aiheuttamat muutokset sykevaihtelussa olivat pienempiä kuin noin 75-vuotiailla.

2.8.3 Veren insuliinipitoisuus, diabetes ja lihavuus

Veren normaalia suurempi insuliinipitoisuus saattaa heikentää sydämen parasympaattista säätelyä lisäämällä sympaattisen säätelyn osuutta. Tutkimuksessa, jossa oli 17 tervettä eripainoista aikuista, todettiin sykevaihtelun LF:HF-suhteen korreloivan veren paastoinsuliinipitoisuuden kanssa ($r = 0,55$) (Paolisso ym. 1997). Poikkileikkaustutkimuksessa veren insuliini- ja glukoosipitoisuus olivat yhteydessä vähentyneeseen sykevaihteluun myös normaalin glukoosinsiedon omaavilla 5410:llä iältään 45–64-vuotiaalla miehellä ja naisella (Schroeder ym. 2005). Tutkimuksessa oli mukana lisäksi 969 diabeetikkoa ja 3561 tutkimushenkilöä, jolla oli heikentynyt glukoosin sietokyky. Tässä tutkimusaineistossa todettiin myös kokonaissykevaihtelua kuvaava SDNN-arvo ja etenkin parasympaattista säätelyä kuvaava RMSSD-arvo pienemmiksi diabeetikoilla kuin terveillä. Saman tutkimuksen yhteydessä 6245 tutkittavalla tehdyssä yhdeksän vuoden seurannassa ainakin SDNN- ja RMSSD-arvot laskivat enemmän 457 diabeetikolla kuin 3567 terveellä. Tulokset tukevat käsitystä siitä, että diabetekseen liittyy monesta syystä johtuva heikentynyt sydämen autonomisen hermoston säätely. Lisäksi normaali ikään liittyvä sykevaihtelun väheneminen saattaa olla diabeetikoilla suurempaa.

Ylipainoisten sympaattinen hermosto on lepotilassa aktiivisempi kuin normaalipainoisilla Scherrerin ja Sartorin katsauksen mukaan (1997). Ylipainoisilla onkin todettu paastotilassa normaalipainoisia suurempi sykevaihtelun LF:HF-suhde (Tentolouris ym. 2003). Ylipainoisilla arteriat eivät aiheuta samoja autonomisen hermoston säätelyn muutoksia kuin normaalipainoisilla, vaikka heillä autonomisen hermoston toiminta on todettu normaaliksi autonomisen hermoston toimintatesteissä (Tentolouris 2003). Ylipainoon liittyvä heikentynyt insuliinivaste ja toisaalta energian pitkäaikainen liikasaanti ja lisääntynyt rasvakudoksen määrä sattavat selittää vähäistä autonomisen hermoston aktivoitumista aterian jälkeen (Paolisso 1997).

2.8.4 Fyysinen harjoittelutausta ja liikunnan välittömät vaikutukset

Kestävyystyyppisen liikunnan harjoittaminen hidastaa pitkällä aikavälillä leposykettä. Tämä saattaa johtua liikunnan tehostamasta sydämen parasympaattisesta säätelystä (Task force 1996, Sandercock ym. 2005, Aubert ym. 2003, Sandercock ja Brodie 2006). Meta-analyysin perusteella fyysinen harjoittelu vaikuttaa sykevaihteluun pidentämällä levossa mitattujen RR-välien kestoja ja lisäämällä sykevaihtelua HF-taajuusalueella (Sandercock ym. 2005). Liikunnan vaikutuksia

sykevaihteluun ei ole kuitenkaan todettu kaikissa tutkimuksissa. Kontrolloiduissa satunnaistetuissa liikuntainterventiotutkimuksissa ei todettu matalatehoisen kestävyysliikunnan vaikuttavan sykevaihteluun suomalaisilla 53-63-vuotiailla miehillä viiden tai kuuden vuoden aikana (Uusitalo ym. 2004, Tuomainen ym. 2006). Liikunnalla on myös välittömiä, minuuteista vuorokauteen kestäviä vaikutuksia sykevaihteluun (Hautala ym. 2001, Pober ym. 2004).

2.9 Ravinnon vaikutukset sykevaihteluun

Myös ravinnolla on yhteyksiä sykevaihtelun avulla arvioitavaan sydämen toiminnan säätelyyn. Osa yhteyksistä liittyy pitkäaikaiseen ravinnon saantiin, kuten ruokavalion koostumukseen. Toisaalta paaston tiedetään vähentävän sympaattisen hermoston aktivaatiota (Tentolouris ym. 2006). Ruoka ja juoma aiheuttavat välittömiä muutoksia sykevaihteluun. Aterian sisältämät yksittäiset ravintoaineet sekä energiamäärä vaikuttavat aterian jälkeisiin sykevaihtelumuutoksiin.

2.9.1 Ravinnon pitkäaikaiset vaikutukset

Kasvisruokavaliolla saattaa olla sekaruokavaliioon verrattuna terveydelle edullisempia vaikutuksia sydämen säätelyyn. Poikkileikkaustutkimuksessa oli mukana 35 kasvisruokavaliota ja 35 sekaruokavaliota käyttävää kiinalaisnaista, joilla kuukautiset olivat iän myötä loppuneet (Fu ym. 2006). Kasvisruokavaliota käyttävillä naisilla oli sykevaihtelun sijoittuminen vähäisempää LF-taajuusalueelle ja suurempaa HF-taajuusalueelle kuin sekaruokavaliota käyttävillä.

Ravinnon sisältämien kalaperäisten rasvahappojen, dokosaheksaeni- ja eikosapentaeenihapon, on meta-analyysin perusteella 30 satunnaistetussa, kontrolloidussa ihmistutkimuksessa todettu hidastavan sydämen sykettä (Mozaffarian ym. 2005). Kaksoissokkoutetussa lumekontrolloidussa tutkimuksessa oli mukana 25 naista ja 35 miestä (Christensen ym. 1999). Tutkimuksessa päivittäinen kalaöljyannos oli kaksi tai kuusi grammaa 12 viikon jaksolla. Miehillä todettiin kuuden gramman kalaöljyannoksella sykevaihtelussa lähtötilannetta suuremmat SDNN-, pNN50- ja RMSSD-arvot. Naisilla samaa vaikutusta ei havaittu. Yhdysvaltalaisessa tutkimuksessa oli mukana 4456 tutkittavaa iältään 65 vuotta tai enemmän (Mozaffarian ym. 2008). Tutkittavien kalankäyttöä arvioitiin ruoankäyttökyselyiden perusteella. Runsaammin kalaa käyttävillä sykevaihtelun RMSSD-arvo oli suurempi ja normalisoidun sykevaihtelun sijoittuminen HF-taajuusalueelle suurempaa. Sykevaihtelun LF:HF-suhde oli pienempi enemmän kalaa syöville. Tulokset viittaavat siis siihen, että kalan rasvahapot voisivat parantaa sydämen parasympaattista säätelyä.

Ravinnon rasvahappokoostumuksen lisäksi rasvan määrällä saattaa olla vaikutuksia autonomisen hermoston toimintaan. Terveillä naisilla todettiin kahdessa viikossa eroa sykevaihtelumuuttujissa

vähä- ja runsasrasvaisten ruokavalioiden välillä (Pellizzer ym. 1999). Toisessa ruokavaliossa energiasta 25 prosenttia ja toisessa 40 prosenttia saatiin rasvasta. Vähärasvainen ruokavalio paransi sykevaihtelutuloksia terveydelle edulliseen suuntaan. Se suurensi RMSSD-arvoa ja lisäsi sykevaihtelun sijoittumista HF-taajuusalueelle sekä pienensi LF:HF-suhdetta. Vaikka LF:HF-suhteen tulkinnasta ei ole yhtenäistä mielipidettä, sen pieneneminen saattaa muiden samansuuntaisten tulosten ohella merkitä sydämen parantunutta parasympaattista säätelyä. Tutkimuksessa rasvan määrän lisäksi saattoi myös rasvahappokoostumus vaikuttaa tuloksiin, koska runsasrasvainen ruokavalio sisälsi enemmän tyydyttynyttä rasvaa kuin vähärasvainen.

2.9.2 Ravinnon lyhytaikaiset vaikutukset

Ateria

Ateria aktivoi sympaattista hermostoa (Baak 2007, Orshoven ym. 2008). Yksi mekanismi tähän on aterian aiheuttamat verenkierrolliset muutokset, koska ravinnon imeytyminen, kulkeutuminen ja varastoiminen aiheuttavat muutoksia verenvirtauksissa eri elimiin. Ateriaan liittyvät erilaiset tekijät laajentavat vatsan alueen verisuonia ja saavat alueen verenvirtauksen tehostumaan. Aortassa verenpaine laskee, jolloin mm. barorefleksi aktivoi sydämen toimimaan tehokkaammin. Terve elimistö pystyy yleensä tasapainottamaan aterian jälkeiset verenpaineen heilahdukset. Luultavasti tästä johtuen verenpaineissa ei yleensä todeta aterian aiheuttamia muutoksia. Kuitenkin vanhuksilla havaitaan usein aterian jälkeen verenpaineen huomattavaakin laskua (Jansen ja Lipsitz 1995). Se aiheutuu autonomisen hermoston heikentyneestä kyvystä reagoida nopeasti ja tehokkaasti muuttuviin olosuhteisiin.

Juominen

Pelkällä veden juomisella on itsenäisiä vaikutuksia sydämen autonomiseen säätelyyn. Tutkimuksessa, johon osallistui neljä 24-34-vuotiasta naista ja kuusi miestä, puolen litran vesiannos hidasti sydämen sykettä, suurensi sykevaihtelun RMSSD-arvoa ja lisäsi sykevaihtelun sijoittumista HF-taajuusalueelle (Routledge ym. 2002). Veden juominen tehosti sydämen parasympaattista säätelyä myös kuudella 20-34-vuotiaalla miehellä ja kolmella naisella tehdyssä tutkimuksessa (Brown ym. 2005). Veden juomisen on havaittu tehostavan ääreisverenkierron verisuoniston sympaattista aktiivisuutta (Jordan ym. 2000). Tämä supistaa verisuonia, jolloin verenpaine pyrkii nousemaan. Arvellaan, että veden juomista seuraava sydämen parasympaattisen säätelyn vahvistuminen saattaa johtua tästä (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005). Sydämen tehostuneen parasympaattisen säätelyn seurauksena laskeva syke laskee verenpainetta. Tästä syystä tutkimuksissa ei havaita verenpaineen muutoksia veden juonnin yhteydessä terveillä aikuisilla.

Veden juonnin tarkkoja vaikutusmekanismeja sydämen autonomiseen säätelyyn ei vielä kuitenkaan tunneta (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005).

Hiilihydraatit ja insuliini

Etenkin hiilihydraattipitoinen ateria saa insuliinin erittymään haimasta verenkiertoon. Insuliini liittyy monin eri tavoin sydän- ja verenkiertoelimistön autonomiseen säätelyyn. Insuliini laskee verenpainetta laajentamalla ääreisverenkierron suonia, jolloin barorefleksi pienentää sydämen parasympaattista säätelyä sympaattisen tehostuessa (Erling ym. 1991, Vollenweider ym. 1993, Baron 1994, Borne ym. 1999). Scherrerin ja Sartorin katsauksen mukaan (1997) insuliini vaikuttaa myös suoraan keskushermostoon voimistaen sydämen ja verenkiertoelimistön sympaattista säätelyä.

Insuliinivaikutuksen lisäksi hiilihydraattipitoiset ateriat saattavat aktivoida autonomista hermostoa tulehdusmekanismien kautta. Hiilihydraattien nauttimista seuraava veren glukoosipitoisuuden suureneminen aiheuttaa elimistössä välittömän tulehdusreaktion sekä oksidatiivista stressiä (Mohanty ym. 2000, Esposito ym. 2002, Dandona ym. 2007, Ghanim ym. 2007). Autonominen hermosto on tärkeässä roolissa elimistön tulehdusreaktioiden säätelyssä. Tulehdusreaktioilla on yhteys autonomisen hermoston kautta aivoihin ja päinvastoin (Tracey 2002).

Myös tapa, jolla hiilihydraatit saadaan elimistöön vaikuttaa niiden vaikutustapaan elimistössä (Berne ym. 1989). Oraalinen glukoosiannos lisäsi lihaksen mikroneurografialla mitattua verisuonien sympaattista säätelyä, mutta suoneen annettu glukoosi ei. Syynä suun kautta ja suoneen annetun glukoosin vaikutuseroihin voivat olla ruoansulatuselimistön erittämät peptidit, kuten glukagonin kaltainen peptidi-1 ja gastriinia estävä peptidi (Visvanathan ym. 2004). Vielä on epäselvää aktivoivatko nämä peptidit verenkiertoelimistön autonomista säätelyä insuliinin kautta vai itsenäisesti.

2.9.3 Tutkimuksia aterian välittömistä vaikutuksista sykevaihteluun

Hiilihydraattikoostumus

Aterian hiilihydraattikoostumuksella saattaa olla merkitystä autonomisen hermoston aktivaatiossa. Lihaksen mikroneurografialla mitattu sympaattinen aktivaatio luurankolihasen verisuonissa oli heikompaa suoneen annetun fruktoosi- kuin glukoosiannoksen jälkeen (Vollenweider ym. 1993). Tämä saattaa liittyä fruktoosin heikompaan kykyyn lisätä veren insuliinipitoisuutta. Toisaalta fruktoosiliuoksen ja appelsiinimehun juominen aiheuttivat heikommät tulehduksen ja oksidatiivisen stressin vasteet kuin glukoosiliuos (Ghanim ym. 2007). Myös aterian muulla energiaravintoainekoostumuksella lieenee vaikutuksia sen kykyyn aktivoida autonomista hermostoa. Aterian energiasisällön painottuessa hiilihydraattien sijasta proteiineihin tai rasvaan saattaa autonomisen hermoston aktivaatio jäädä heikommaksi (Tentolouris ym. 2003).

Aterian aiheuttaman autonomisen hermoston aktivaation tutkiminen keskittyi aikaisemmin pitkälti veren korkean glukoosipitoisuuden eli hyperglykemian tutkimiseen perinteisin autonomisen hermoston tutkimusmenetelmin. Hyperglykemia aiheutettiin joko lisäämällä glukoosia suoraan suoneen, antamalla glukoosiannos suun kautta tai syömällä hiilihydraattipitoinen seka-ateria. Sykevaihtelua ja verenpainetta on tutkittu lähinnä oraalistien glukoosirasitusten aikana ja seka-aterioiden jälkeen.

Glukoosi

Oraalinen glukoosirasituskoe mittaa elimistön glukoosiaineenvaihdunnan toimintakykyä (WHO 2006). Veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksia seurataan 75 g glukoosia sisältävän liuoksen juomisen jälkeen kahden tai viiden tunnin ajan. Testiä käytetään heikentyneen glukoosin sietokyvyn ja diabeteksen diagnostiikkaan.

Raskaana olevilla sekä terveillä että raskausajan diabetesta sairastavilla naisilla 100 gramman glukoosiannos lisäsi normalisoitua sykevaihtelua LF-taajuusalueella ja vähensi normalisoitua sekä absoluuttista vaihtelua HF-taajuusalueella (Weissman ym. 2006). LF:HF-suhde suureni. Sen sijaan kokonaissykevaihtelussa, aikatarkastelun sykevaihtelumuuttujissa tai sykkeessä ei havaittu muutoksia tunti glukoosin nauttimisen jälkeen. Yhdeksällä miehellä ja kahdeksalla naisella 75 gramman glukoosiannos suurensi sykevaihtelun normalisoitujen LF:HF-vaihteluiden suhdetta ja kiihdytti sykettä (Paolisso ym. 1997). HF-taajuusalueelle jakautuva sykevaihtelu ei muuttunut. LF:HF-vaihteluiden suhde suurentui ja syke kiihtyi myös 75 gramman glukoosiannoksen nauttimisen jälkeen 25:llä noin 75-vuotiaalla sekä 30:llä yli satavuotiaalla (Paolisso ym. 2000). Näissä kolmessa tutkimuksessa glukoosiannos ei muuttanut verenpainetta.

Seka-arteriat

Seka-arterioiden vaikutuksia sykevaihteluun ja verenpaineeseen tarkasteltiin kahdessa terveille normaalipainoisille aikuisille tehdyssä tutkimuksessa (Lu ym. 1999, Tentolouris ym. 2003). Sykevaihtelu- ja sykeanalyysiin perustuvat tutkimustulokset viittasivat seka-arterioiden vähentävän glukosirasitusten tavoin sydämen parasympaattista säätelyä, jolloin sympaattisen säätelyn osuus suhteessa suurentui. Verenpainemuutoksia ei näissäkään tutkimuksissa havaittu. Tutkimusten arterioiden energiasisältö oli 500 - 546 kilokaloria, joista suurin osa oli peräisin hiilihydraateista. Aterian jälkeen 15 naisella mitattiin suurentunut LF:HF-suhde (Tentolouris ym. 2003). Ateria lisäsi vaihtelua LF-taajuusalueella ja vähensi HF-taajuusalueella. Syke ei muuttunut aterian jälkeen. Toisessa tutkimuksessa kuudella miehellä ja kolmella naisella LF:HF-suhde suureni. HF-taajuusalueella sykevaihtelu väheni, mutta LF-taajuusalueen vaihtelussa ei tapahtunut muutoksia (Lu ym. 1999). Tutkimuksessa todettiin sykkeen kiihtyneen aterian vaikutuksesta.

2.9.4 Bioaktiiviset aineet ja sykevaihtelu

Energiaravintoaineiden lisäksi ravinnon sisältämät muut tekijät saattavat vaikuttaa autonomisen hermoston toimintaan. Kasvikunnassa näitä vaikuttavia aineita saattavat olla esimerkiksi vitamiinit ja flavonoidit, joita on etenkin mehuissa, mausteissa ja nautintoaineissa, kuten suklaassa, teessä ja kahvissa (Westerterp-Plantega ym. 2006). Flavonoideilla on yhteyttä vähentyneeseen sepelvaltimotaudin riskiin, koska ne vaikuttavat verisuonissa terveydelle edullisesti mm. vähentämällä oksidatiivista stressiä (Yao ym. 2004). Flavonoidit saattavat olla yhteydessä sydämen autonomisen hermoston säätelyyn monin mekanismein.

Guarana ja vihreä tee sisältävät lukuisten muiden bioaktiivisten yhdisteiden ohella kofeiinia (Westerterp-Plantega ym. 2006). Vihreä tee aktivoi sydämen sympaattista hermostoa lisäämällä noradrenaliinin eritystä hermosolujen synapsiraoissa ja pidentämällä sen vaikutusaikaa kohdesoluissa (Dulloo ym. 2000). Kofeiini lisää suoniston vastusta verenvirtaukselle lisäämällä suonien seinämien perusjännitystä (Westerterp-Plantega ym. 2006). Tämä aiheuttaa parasympaattisen aktivaation tehostumista sydämessä. Kofeiini aktivoi parasympaattista hermostoa myös vaikuttamalla suoraan aivoihin (Scholey ja Kennedy 2004). Kofeiiniannoksien välittömistä vaikutuksista sydämen sykeväli vaihteluun on erilaisia tuloksia (Yeragani ym. 2005, Rauh ym. 2006). Tuloksiin vaikuttaa se, että kofeiiniin tottumattomilla elimistö reagoi kofeiiniin herkemmin kuin siihen tottuneilla. Myös kofeiinin erilaiset toisiaan tasapainottavat vaikutusmekanismit sekä tutkimuksissa käytetyt vaihtelevat kofeiiniannokset selittävät vaihtelevia tutkimustuloksia.

2.10 Yhteenveto kirjallisuudesta

Kirjallisuuden mukaan glukoosipitoisten aterioiden välittömiä vaikutuksia sympaattiseen hermostoon on tutkittu melko paljon. Tutkimusnäytön perusteella aterian hiilihydraatit lisäävät sympaattisen hermoston aktivaatiota. Yleensä terveillä tutkimushenkilöillä ei havaita aterian aiheuttamia muutoksia verenpaineessa, mm. sen takia, että barorefleksi oletettavasti tasapainottaa muutoksia. Sen sijaan sydämen sykkeen on havaittu lisääntyvän aterian jälkeisenä tuntina.

Parasympaattisen hermoston säätelyn häiriöiden tiedetään liittyvän moniin sairauksiin.

Sykevaihteluanalyysi mahdollistaa sydämen parasympaattisen säätelyn arvioimisen. Ravinto kuuluu keskeisenä osana elintapoihin, joten on tärkeää tutkia sen välittömiä sekä pitkäaikaisia vaikutuksia sydämen säätelyyn. Aterian sisältämät hiilihydraatit saattavat aktivoida sympaattista hermostoa enemmän kuin rasva tai proteiinit ruokailun jälkeisinä tunteina. Tutkimuksissa on todettu veren insuliinipitoisuuden lisääntymisen olevan yhteydessä näihin muutoksiin. Kuitenkin myös muut mekanismit saattavat vaikuttaa insuliinin rinnalla. Ne voivat liittyä aterian erilaiseen hiilihydraattikoostumukseen tai aterian sisältämiin muihin aineisiin. Esimerkiksi ns. bioaktiivisilla aineilla saattaa olla sydän- ja verenkiertoelimistössä edullisia, esimerkiksi hiilihydraattien aiheuttamaa sympaattisen hermoston aktivaatiota tasapainottavia vaikutuksia.

3 Tutkimuksen tavoitteet ja tutkimusongelmat

Tutkimuksen tavoitteena oli kehittää ja testata tutkimusmalli, jonka avulla voidaan tutkia aterian vaikutuksia veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin sekä sydämen autonomisen hermoston kautta tapahtuvaan säätelyyn sykevälivaihtelua sekä syke- ja verenpainemuutoksia analysoimalla.

Tavoitteena oli myös selvittää mahdollisia eroja mitatuissa fysiologisissa vasteissa veden ja erilaisten hiilihydraattipitoisten juomien välillä. Tutkimusjuomiksi valittiin hiilihydraattipitoiset juomat, koska hiilihydraattien tiedetään aktivoivan sympaattista hermostoa. Lisäksi tarkastelimme ns. bioaktiivisten aineiden ja hiilihydraattien yhteisvaikutuksia näihin muuttujiin.

Tutkimuskysymykset ovat:

- Havaitsemme tutkimusmenetelmällämme sydämen sykkeessä, sykevälivaihtelussa ja verenpaineessa muutoksia 75 g glukoosiannoksen jälkeen?
- Vaikuttavatko juoman sisältämät ”bioaktiiviset aineet” edellä mainittuihin vasteisiin?
- Ovatko mahdolliset muutokset sykkeessä, sykevälivaihtelussa ja verenpaineessa yhteydessä elimistön glukoosi- ja insuliinivasteisiin?

4 Tutkimusmenetelmät ja aineisto

Tutkimus toteutettiin yhteistyössä Helsingin yliopiston soveltavan kemian ja mikrobiologian laitoksen ja kliinisen laitoksen liikuntalääketieteen yksikön kanssa. Tutkimus sai puoltolausunnon Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin koordinoivalta eettiseltä toimikunnalta (lausunto 94/E0/2007, muutokset 54/E0/2007) ja pro gradu -apurahan soveltavan kemian ja mikrobiologian laitokselta. Tutkimuspaikkana oli Urheilulääketieteen säätiön tiloissa toimiva Helsingin Urheilulääkäriasema.

Tutkimukseen kuului esitutkimuskäynti, jolla tarkastettiin tutkimushenkilöiden kelpoisuus tutkimukseen. Varsinaisia tutkimuspäiviä oli neljä ja ne sijoituivat noin viikon välein. Tutkittavat nauttivat tutkimusaamuina saturnaistetussa järjestyksessä glukoosiliuosta, vettä, kaupallista FlowTM-juomaa tai FlowTM-juomaa, joka oli valmistettu ilman bioaktiivisia aineita (käytetään myöhemmin nimeä Fru+glu).

Opinnäytetyön tekijä, bioanalyttikko, ETK Harriet Hägglund teki terveystarkastuksen ja tutkimuksen kaikki fysiologiset mittaukset sekä otti verinäytteet. Lääkärintarkastukset suoritti liikuntalääketieteen erikoislääkäri Aleksi Kallioniemi. Laskimokanyylin tutkittaville laittoivat liikuntalääketieteen erikoislääkärit Aleksi Kallioniemi tai Stefan von Knorring. Tiedot tutkimuksessa käytetyistä laitteista, reagensseista ja välineistä löytyvät liitteestä 1. Maksimaalisen fyysisen suorituskyvyn testit suorittivat liikunfafysiologit Anne Koponen ja Elena Sarabia Cachadina sekä opinnäytetyöntekijä.

4.1 Tutkimushenkilöiden rekrytointi ja seulontatutkimukset

Tutkimushenkilöiksi valittiin miehiä, koska naisten kuukautiskierron tiedetään vaikuttavan sykevaihteluun (Minson ym. 2000, Hirshoren ym. 2002). Tutkimushenkilöitä rekrytoitiin sähköpostin välityksellä Helsingin yliopiston lääketieteellisen tiedekunnan opiskelijoiden postituslistoilta sekä tuttavien kautta. Tavoitteena oli rekrytoida kymmenen tutkittavaa. Lopulta keskeytysten takia rekrytoitiin 13 henkilöä, joista kahdeksan suoritti koko tutkimuksen. Rekrytoinnin yhteydessä tutkittaville selvitettiin tutkimuksen kulku suullisesti ja lisäksi he saivat kirjallisen tiedotteen (liite 2) sekä suostumuslomakkeen (liite 3), jonka he palauttivat täytettynä ensimmäisellä varsinaisella tutkimuskäynnillään.

Tutkimusta edelsi seulontatutkimuskäynti. Ruokailu ja kofeiinipitoisten juomien nauttiminen olivat kiellettyjä kolme tuntia ennen terveystarkastusta. Käynnin yhteydessä tutkittavat täyttivät

terveydentilaansa, elintapojaan sekä liikuntatottumuksiaan koskevan kyselyn. Kyselylomake on käytössä Helsingin Urheilulääkäriasemalla. Sen avulla arvioidaan yleensä asiakkaiden kuntotestikelpoisuutta, joten se keskittyy kartoittamaan etenkin sydämen ja verenkiertoelimistön terveyttä. Kyselyyn lisättiin tutkimusta varten kysymyksiä mm. terveydentilasta ja ravinnosta. Näitä kysymyksiä olivat mahdolliset ruoka-aineyleherkkyydet, paastotilan veren glukoosi- ja rasva-arvot, verinäytteenottoon liittyneet ongelmat sekä lähisukulaisilla todettu diabetes. Lisäksi kysyttiin tupakan käyttöä. Ruokavaliosta kysyttiin mahdollisia sekaruokavaliosta poikkeavia rajoituksia sekä alkoholin, kahvin ja teen sekä kofeiinipitoisten juomien käyttöä.

Terveystarkastukseen kuului 12-kanavainen diagnostinen sydänfilmi mahdollisten sydänoireiden toteamiseksi. Samassa yhteydessä mitattiin perinteisellä tekniikalla manuaalisesti verenpaine käsivarresta. Koska astmalla saattaa olla yhteyksiä sykevaihtelumuutoksiin, tutkittavien hengityskapasiteetti analysoitiin spirometrian avulla.

Tutkimme hiilihydraattien ja bioaktiivisten aineiden vaikutuksia elimistössä, joten erilaisten aineenvaihdunnallisten häiriöiden seulominen oli tarpeellista. Diabetekseen liittyvissä munuaisten toimintahäiriössä glukoosia ja proteiinia saattaa erittyä normaalista poiketen virtsaan, joten nämä analysoitiin tutkittavien virtsanäytteistä (Halimi ym. 2008). Plasman normaali glukoosipitoisuus varmistettiin sormenpään kapillaariverinäytteestä pikamittarilla. Lisäksi varsinaisen tutkimuskerran yhteydessä otettiin paastonäyte, josta analysoitiin kaupallisessa laboratoriossa (Yhtyneet laboratoriot Oy, Helsinki) veren rasva-arvot eli kokonaiskolesteroli, LDL- sekä HDL-kolesteroli ja triglyseridit. Näitä käytetään kliinisessä diagnostiikassa arvioitaessa potilaan rasva-aineenvaihdunnan tilaa.

Varsinaisessa tutkimuksessa otettiin useita verinäytteitä. Tämän takia EDTA-putkeen otetusta verinäytteestä varmistettiin riittävät veren punasoluarvot eli hematokriitti ja hemoglobiini syanomethemoglobiinimenetelmällä. Laskimoverinäytteenoton yhteydessä arvioitiin myös tutkittavien herkkyyttä verinäytteenotolle. Kehon koostumus mitattiin bioimpedanssitekniikkaan perustuvalla laitteella. Mittausten jälkeen tutkittavat kävivät lääkärin suorittamassa terveystarkastuksessa, jossa lääkäri tarkasti tutkittavan täyttämän esitietolomakkeen ja laboratoriomittauksien tulokset sekä haastatteli tutkittavaa. Lääkäri varmisti, ettei koehenkilöllä ollut terveydellistä estettä tutkimukseen osallistumiselle.

Seulontatutkimusten jälkeen tutkittaville selvitettiin sekä suullisesti että kirjallisesti heidän oikeutensa keskeyttää tutkimus halutessaan. Sykevaihteluun vaikuttavat useat mittauksen valmistautumiseen liittyvät seikat, joten tarkat valmistautumisohteet sykererekisteröintiin ovat oleellisia (Parati ja Di Rienzo 2003). Tutkittavat saivat seulontatutkimuskäynniltä mukaansa valmistautumisohteet sekä ruoka- ja liikuntapäiväkirjan täyttöohjeineen (liite 4). Tutkimuksen loputtua tutkittavat saivat ruokapäiväkirjoista ravintolaskentaohjelmalla lasketut ja opinnäytetyöntekijän kommentoimat analyysit ruokapäiväkirjoistaan. Kirjallisen suostumuksen tutkimukseen tutkittavat allekirjoittivat ensimmäisellä varsinaisella tutkimuskäynnillään.

Tutkittaville tarjottiin mahdollisuus halutessaan osallistua Helsingin yliopiston liikuntalääketieteen yksikössä Helsingin Urheilulääkäriasemalla rutiinikäytössä olevaan maksimaalisen aerobisen suorituskyvyn testiin, joko polkupyöräergometrillä polkien tai juoksumatolla juosten. Testin suoritti seitsemän tutkittavaa. Kahdelle tutkittavalle tehdyssä polkupyörätestissä polkemistehoa lisättiin kolmen minuutin välein 30 wattia. Testi aloitettiin 0 watin teholla ja jatkettiin tutkittavan uupumukseen asti. Viidelle tutkittavalle tehdyssä juoksutestissä juoksumaton kulma oli puoli astetta ja aloitusnopeus määräytyi tutkittavan liikunnan harrastuneisuuden mukaan. Juoksumaton nopeutta lisättiin kolmen minuutin välein 1 km/h portain tutkittavan uupumukseen asti. Tutkittavilta mitattiin hengityskaasuista hapen, hiilidioksidin, typen ja argonin pitoisuudet sekä hengitysilman tilavuus henkäys henkäykseltä. Lisäksi rekisteröitiin kaksikanavaisella EKG:lla sydänsähkökäyrää. Vakiintuneen tavan mukaisesti testissä saavutettu maksimaalinen hapenottokyky muutettiin tutkittavan iän ja sukupuolen huomioivalla kuntoluokitustaulukolla kuntoluokaksi (Shvartz ja Reibold 1990) (liite 5). Kuntotestimittauksista opinnäytetyön taustamuuttujiksi valittiin kuntoluokan lisäksi maksimaalinen syke, maksimaalinen hapenottokyky litroina minuutissa sekä laskettuna millilitroina painokiloa kohden.

4.2 Poissulkukriteerit

Tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia ravinnon fysiologisia vasteita terveillä tupakoimattomilla henkilöillä. Ruoansulatukseen tai hiilihydraattiaineenvaihduntaan liittyvien häiriöiden tai sairauksien katsottiin vaikuttavan tutkimustuloksiin. Ruoansulatuskanavan alueen sairaudet, merkittävä diabetessukurasite, glukoositasapainon häiriöt sekä vakava krooninen sairaus tai näiden lääkitykset estivät osallistumisen tutkimukseen. Lisäksi tutkimusjuomaan liittyvät ruoka-aineyleherkkyydet, kuten omena-, puolukka-, mustikka- ja sitruunayliherkkyys, olivat poissulkukriteereitä. Aktiivinen kilpaurheilu sekä niukkarasvainen tai -hiilihydraattinen ruokavalio aiheuttavat muutoksia aineenvaihduntaan, samoin kehon huomattava yli- tai alipaino (Wolever 1991). Poissulkukriteereinä olivat painoindeksit yli 30 kg/m² tai alle 20 kg/m². Poissulkukriteereinä

olivat luonnollisesti myös mahdolliset terveystarkastuksessa löydetty viitearvoista poikkeavat tulokset tai lääkärin toteamat tutkimukseen osallistumista haittaavat terveydelliset syyt.

4.3 Tutkimusjuomat

Kaikkien neljän tutkimusjuoman tilavuus oli 300 millilitraa. Yksi juoma sisälsi kliinisen glukoosirasituskokeen tavoin veteen liuotettuna 75 grammaa imeytyvää glukoosia (WHO 2006, HUSLAB 2007). Koska pelkän nesteen juonnin tiedetään vaikuttavan sydämen autonomiseen säätelyyn, toiseksi tutkimusjuomaksi valittiin juomisen kontrollina toimiva vesi (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005). Kolmas tutkimusjuoma oli markkinoilla olevaa kaupallista golfin pelaajille suunnattua FlowTM-juomaa. Neljäntenä juomana oli Fru+glu-juomaa, joka oli valmistettu FlowTM-juoman tavoin, mutta ilman ns. bioaktiivisia aineita. Bioaktiivisiksi aineiksi luokiteltiin mehutiivisteet (omena-, puolukka-, mustikka- ja sitruunatiiviste), sekä L-karnitiini, guarana, tauriini, vihreäteeuute, rannikkomännyn kuoriuute (Pycnogenol®) sekä inositoli. Näillä aineilla on mahdollisesti sydän- ja verenkiertoelimistön säätelyyn liittyviä vaikutuksia (Satoh ja Sperelakis 1998, Dulloo ym. 2000, Scholey ja Kennedy 2004, Yeragani ym. 2005, Cesarone ym. 2006, Rauh ym. 2006, Westerterp-Plantega ym. 2006, Ghanim ym. 2007).

FlowTM-juoma laimennettiin myytävän pullon ohjeen mukaisesti vesijohtoveteen. Fru+glu-juoman laimennus laskettiin vastaamaan hiilihydraattipitoisuudeltaan alkuperäistä juomaa. Laimennettu FlowTM- ja Fru+glu-juoma sisälsivät 12,6 g hiilihydraattia (taulukko 2). Juomat laimennettiin tutkimusta edeltävänä päivänä. Tutkimusaamuna niiden lämpötila ja pH mitattiin. Juomien lämpötilat olivat 22,1 - 22,4°C ja pH:t ovat taulukossa 2. Tutkittaville ei kerrottu mitä juomia tutkimuksessa on mukana. Juomat tarjoiltiin valkoisesta pullosta, jotta tutkittavat eivät nähneet tai haistaneet juomaa.

FlowTM-juomista analysoitiin niiden hiilihydraattikoostumus 13.8.2007 kaupallisessa Novalab Oy-laboratoriossa (Karkkila, Suomi). Menetelmänä käytettiin vesiuuton jälkeen nestekromatografiaa taitekerroindetekointia ja ulkoista standardia käyttäen. Tutkimuksessa käytettiin samaa valmistuserää olevia juomia kuin koostumusanalyyseissä.

Taulukko 2. Tutkimusjuomien ominaisuuksia.

	Glukoosiliuos	Vesi	Flow™	Fru+glu
pH, keskiarvo	7,43	7,83	3,59	3,63
(vaihteluväli)	(7,35 - 7,58)	(7,71 - 7,96)	(3,50 - 3,64)	(3,43 - 3,98)
Glukoosi (g)	75	0	2,46	2,46
Fruktoosi (g)	0	0	10,20	10,20
Tilavuus (ml)	300	300	300	300

4.4 Tutkimuspäivän valmistautumisohjeet

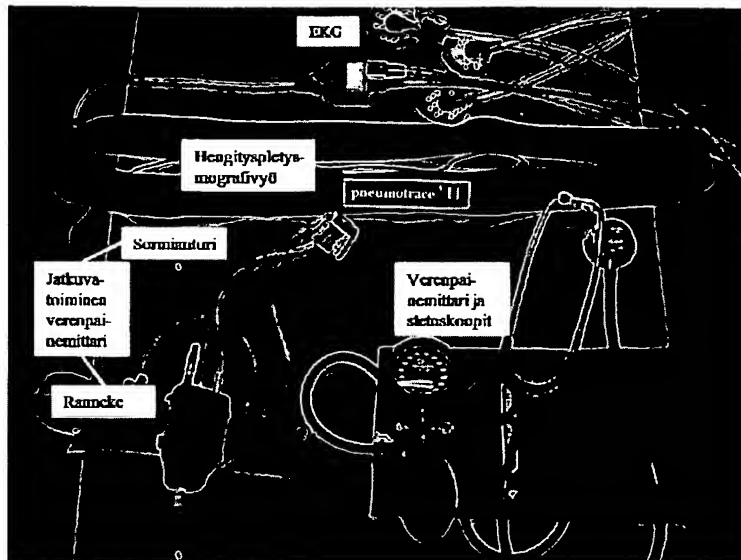
Tutkittaville annettiin kirjalliset ja suulliset ohjeet tutkimuspäiviin valmistautumisesta (liite 6 ja 7). Tutkimusta edeltävän päivän aikana tutkittavat eivät saaneet harrastaa raskasta liikuntaa. Alkoholia tutkittavat eivät saaneet nauttia edellisenä päivänä, eikä runsaasti sitä edellisenkään. Koska tutkimuspäivänä elimistön hiilihydraattivarastot lihaksissa ja maksassa eivät saaneet olla tyhjä, tutkimusta edeltävänä päivänä tutkittavat nauttivat vähintään 150 g hiilihydraatteja. Sen sijaan runsaasti flavonoideja sisältävien ruokien nauttiminen oli kielletty, koska myös bioaktiivisten aineiden vaikutuksia tutkittiin.

Tutkimushenkilöiden ruoankäyttöä ja liikuntaa tutkimusta edeltävän päivän ajalta kontrolloitiin ruoka- ja liikuntapäiväkirjojen avulla. Tutkimusaamua edelsi kahdentoista tunnin paasto (Wolever 1991). Ylimääräinen liikunta ja muu tarpeeton rasitus olivat kiellettyjä tutkimusaamuina, koska liikunta vaikuttaa sykevaihtelumittauksiin.

4.5 Tutkimuspäivän kulku

Tutkittavat saapuivat tutkimuspaikalle aamulla kello 8.00 - 9.00. Tutkittavat kävivät WC:ssä, jotta virtsarakko olisi mahdollisimman tyhjä tutkimuksen alkaessa. Tutkimus tehtiin tutkimushenkilöiden maassa rauhallisessa ja termoneutraalissa eli lämpötilaltaan + 24° C huoneessa. Tutkittavien rinnan ympärille kiinnitettiin hengityspletysmografivyö (kuva 5) hengityksen tiheyden selvittämiseksi. Hengityspletysmografi mittaa rintakehän hengitysliikkeitä vyöhön kohdistuvan venytyksen avulla. Rintaan vakioituille paikoille (V1: rintalastan oikealle puolelle neljänteen kylkiluuväliin, V4: rintalastan vasemmalle puolelle viidenteen kylkiluuväliin keskiluuväliä sekä solisluuhun) kiinnitettiin kertakäyttöiset EKG-elektrodit. Jatkuvatoimisen verenpainemittarin mittausanturi kiinnitettiin pääsääntöisesti oikean käden keskisormeen laitevalmistajan ohjeiden sekä kirjallisuuden mukaisesti (Imholz ym. 1998, BMEYE B.V 2007). Oikean käden kyynärvarteen kiinnitettiin perinteisen manuaalisen verenpainemittarin mansetti mittauksia varten. Kokenut lääkäri laittoi laskimokanyylin pääsääntöisesti vasemman

käden kyynärtaipeen laskimoon. Perustilan eli lähtötilanteen verinäytteet otettiin välittömästi kanyylista.



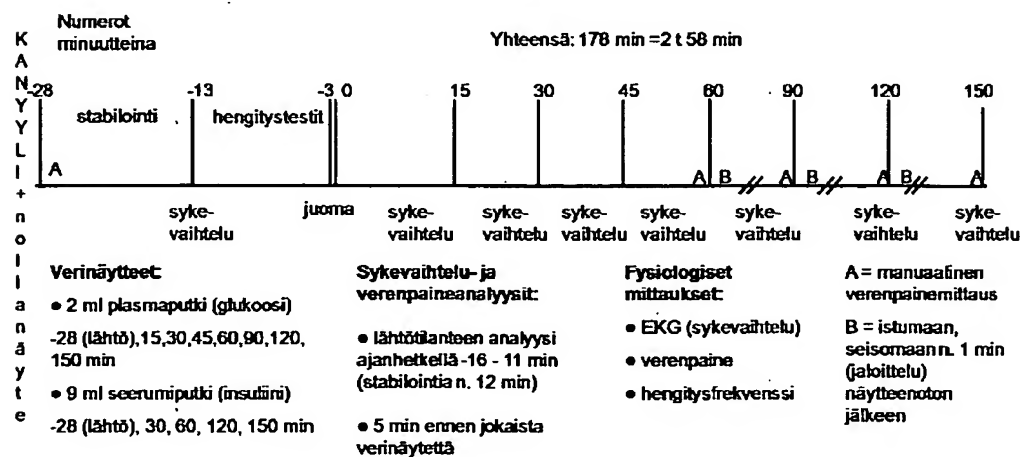
Kuva 5. Tutkimuksessa käytetyt fysiologiset mittausvälineet.

Tutkimuksen kulku on esitetty kuvassa 6. Laskimokanyylin laittoa seurasi viidentoista minuutin tasaantumisvaihe. Sen tarkoituksena oli rauhoittaa elimistö lepotilaansa. Sykevaihtelumittauksen pitää kestää vähintään kaksi kertaa alhaisimman taajuusalueen keston verran (Task force 1996). Sykevaihtelun jakautumisen mittaaminen HF-taajuusalueen alarajalle 0,15 Hz kestää 13,3 sekuntia (Aubert ym. 2003). LF-taajuusalueen alataajuus on 0,04 Hz, jolloin sen mittaaminen kestää 50 sekuntia. Yleensä mittaus kestää viidestä kymmeneen minuuttiin. Valitsimme sykevaihtelun analysointiin viiden minuutin aikajakso. Ensimmäinen aikajakso sijoittui tasaantumisvaiheen jälkeen ja loput ennen jokaista verinäytteenottoa.

Tasaantumisvaiheen jälkeen suoritettiin kahden minuutin pituiset syvän ja nopean hengityksen jaksot, joiden avulla pystytään arvioimaan henkilöiden autonomisen hermoston sydämeen kohdistamaa säätelyä. Testien analyysit eivät ole mukana tässä opinnäytetyössä. Hengitystestien jälkeen tutkittavat saivat kolmen minuutin aikana 300 millilitraa yhtä neljästä tutkimusjuomasta (taulukko 2). Juoman jälkeen suun huuhteluun sai noin 30 millilitraa vettä, jonka lämpötila oli noin 22° C.

Asento vaikuttaa sydämen ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston säätelyn perustilaan (Berne ym. 1997). Verenkierrossa tapahtuvien muutosten takia istuma-asennossa säätely painottuu enemmän autonomisen hermoston sympaattiselle puolelle kuin makuuasennossa. Tutkimus päätettiin tehdä makuuasennossa, jotta sydämen autonomisen säätelyn perustila olisi mahdollisimman neutraali. Verinäytteenoton ajaksi tutkittavat kuitenkin kohotettiin puoli-istuvaan asentoon näytteenoton helpottamiseksi. Verinäytteet otettiin laskimokanyylista perustilassa sekä ajanhetkillä 15, 30, 45, 60, 90, 120 ja 150 minuuttia juoman nauttimisesta (kuva 6). Kaikkien näytteenoton aikapisteiden verinäytteistä analysoitiin plasman glukoosipitoisuudet. Näin pyrimme saamaan edustavan analyysin juomien aiheuttamista veren glukoosipitoisuuksien muutoksista. Seerumin insuliinipitoisuudet määritettiin perustilassa sekä 30, 60, 120 ja 150 minuutin aikapisteissä otetuista verinäytteistä.

Autonomisen hermoston säätelyyn vaikuttavat myös psyykkiset tekijät, kuten esim. väsymys ja stressi (Parati ja Di Rienzo 2003). Tutkimuksen valmistautumisohjeessa kehoitettiin tutkittavia nukkumaan edellisenä yönä ainakin kahdeksan tuntia. Tutkimustilanteessa tutkittavien mukavuuden takaamiseksi ja toisaalta nukahtamisen estämiseksi tutkimuksen aikana kuunneltiin äänikirjoja. Kukin sai valita mieleisensä neljästä mahdollisesta (liite 8). Aikapisteissä 60, 90 ja 120 minuuttia tutkittavat nousivat istumaan ja noin minuutin ajaksi jaloittelemaan, jottei pitkä paikoillaan makaaminen aiheuttaisi hermostunutta olotilaa. WC-käynti ajoitettiin tarvittaessa 60 tai 120 minuutin aikapisteelle. Tutkimusaamupäivän päätteeksi tutkittavat saivat lounaan läheisessä lounasravintolassa.



Kuva 6. Mittauksen eteneminen.

4.6 Jatkuvatoimisen verenpainemittauksen periaatteet

Jatkuvatoimisen verenpainemittarin toiminta perustuu nk. Penaz:n ja Wesselingin menetelmiin. Verenpainetta pystytään määrittämään lyönti-lyönniltä mittaamalla sormen pienten valtimoiden verenvirtausta sormimansetissa olevan paineilmatäytön ja infrapunavalon kulun avulla (Imholz ym. 1998, Finapres Medical system 2008). Laite kalibroi signaalin joka 70. sykäys, jotta mittaustaso pysyy oikeana mittauksiin vaikuttavista fysiologisista muutoksista huolimatta (Imholz ym. 1998). Verenpaineessa on eroa sormen pienten valtimoiden ja aortan välillä, koska korkeuserosta johtuen hydrostaattinen paine vaikuttaa sormessa vallitsevaan paineeseen (Imholz ym. 1998). Tutkimuksessa käytetyssä laitteessa ongelma on ratkaistu erillisellä anturilla, joka mittaa sormen ja sydämen korkeuseroa. Laitteen ohjelman laskukaavat huomioivat korkeuseron verenpainearvoissa.

4.7 Fysiologisten mittaussignaalien käsittely ja analysointi

Yksikanavaisen EKG:n, hengityspletysmografin sekä jatkuvatoimisen verenpainemittarin signaalit kerättiin vahvistimen avulla signaalien keräysyksikköön. Signaalien keräystä ja analysointia hallittiin tarkoituksenmukaisella tietokoneohjelmalla (Powerlab software Chart™5 Pro, AD Instruments, Australia). Kaikkien signaalien keräysnopeus oli 1000 Hz, joka takasi riittävän tarkkuuden mm. sykevaihtelun analysointiin (Aubert ym. 2003).

Sykevaihtelun analysointiin käytettiin tietokoneohjelmaa, jonka analyysit perustuivat Fast Fourier Transformation (FFT)-menetelmään. Taajuustarkastelun taajuusalueet asetettiin vakiintuneen tavan mukaisesti LF-taajuusalueen osalta välille 0,04 - 0,15 Hz ja HF-taajuusalueen osalta välille 0,15 - 0,4 Hz.

Sykevälien kestoissa esiintyy normaalisti suurta fysiologista vaihtelua. Kuitenkin analyyseissä on tarpeellista rajata normaaliksi laskettavien RR-välien kestot. Tähän käytettiin analyysohjelmassa oletuksina olevia arvoja (taulukko 3). Ektooppisen eli yksittäisen fysiologisesti liian aikaisin tai myöhään tapahtuvan sydämen lyönnin syynä saattaa olla joko impulssin johtumishäiriö sydämessä tai mittaustekninen häiriö. Sykevaihteluanalyysiin sisällytettiin havaitut ektooppiset lyönnit, koska ne johtuivat terveiden nuorten koehenkilöiden hitaista lepotilan sykkeistä. Ektooppisten lyöntien luonne kuitenkin tarkistettiin silmämääräisesti EKG:stä. Erittäin lyhyet tai pitkät RR-välien kestot luokiteltiin analyyseissä virheiksi ja ne olivat todennäköisesti mittaushäiriöitä. Aikaan perustuvissa analyyseissä virheelliset RR-välit poistettiin. Taajuustarkastelussa virheet keskiarvoistettiin viereisten RR-välien kestojen avulla.

Taulukko 3. Sykevaihteluanalyysissä käytetyt sykevälien kestojen luokittelut Powerlab Chart 5-ohjelman oletusasetusten mukaisesti.

Luokka	ms
Virhe	< 5
Ektopia	5-600
Normaali	600-1500
Ektopia	1500-2000
Virhe	> 2000

Sykevaihtelun aikamuuttujiksi valittiin pNN50, SDNN ja RMSSD. Taajuustarkastelussa analysoitiin kokonaissykevaihtelu, LF- ja HF-taajuusalueille sijoittuva vaihtelu sekä niiden normalisoidut arvot ja LF:HF-suhde. Verenpainemuuttujista analysoitiin systolinen ja diastolinen verenpaine. Hengitystiheydestä, verenpainearvoista sekä sykkeestä laskettiin keskiarvot kustakin analysoidusta viiden minuutin jaksosta.

4.8 Verinäytteiden käsittely ja analyysit

Verinäytteet otettiin laskimokanyylista asianmukaisin välinein vakuumitekniikalla ja tarvittaessa avotekniikalla. Näytteenoton jälkeen putkia käännettiin vähintään kahdeksan kertaa ylösalaisin, jotta veri sekoittui putkissa oleviin lisäaineisiin. Verinäytteenottoputkia seisotettiin huoneenlämmössä 30 minuuttia ja sentrifugoitii huoneenlämmössä 1300 g kymmenen minuutin ajan. Näytteistä eroteltiin seerumi tai plasma välittömästi sentrifugoinnin jälkeen ja ne pakastettiin -20°C:een.

Seerumin insuliinipitoisuudet ja plasman glukoosipitoisuudet määritettiin FINAS-laaturjestelmällä akkreditoidussa HUSLAB:n kliinisessä laboratoriossa rutiinikäytössä olevilla menetelmillä. Insuliinimääritykset suoritettiin aikaeroitteisella fluoroimmunomenetelmällä. Seerumin insuliinipitoisuuksien yksikköinä on milliyksikköä litrassa (mU/l). Yksi milliyksikkö vastaa insuliinipitoisuutta kuusi pmol/l (Volund 1993). Laboratorio ilmoittaa analyysin sarjojen väliseksi variaatiokertoimeksi alle neljä prosenttia. Glukoosimääritykset tehtiin fotometrisellä heksokinaasimenetelmällä, jonka sarjojen välinen variaatiokerroin on noin kaksi. Plasman glukoosipitoisuuksien yksikkönä on millimooli litraa kohden (mmol/l).

4.9 Tulosten laskenta ja tilastolliset analyysit

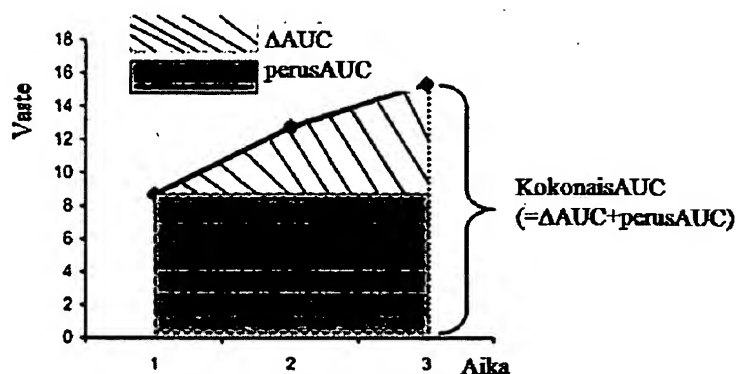
Powerlab software Chart™5 Pro -analyysiohjelmaan määriteltiin muuttujat, jotka ohjelma laski halutuista fysiologisista signaaleista valituista viiden minuutin aikajaksoista. Aikajaksojen alkaminen ja loppuminen määritettiin EKG:n R-aaltojen huippukohtiin, jotta R-aaltojen määrä kussakin jaksossa oli mahdollisimman lähellä toisiaan. EKG-signaalien laatu sekä analyysissä esiintyneet ektooppiset tai virheelliset sydämen lyönnit tarkistettiin silmämääräisesti. Lasketut muuttujat siirrettiin taulukkolaskentaohjelmaan Excel 07 (Microsoft, USA), jossa ne järjestettiin tutkimushenkilön ja tutkimusjuoman mukaisesti. Taulukkolaskentaohjelmaan lisättiin myös verinäytetulokset. Ruokapäiväkirjat analysoitiin Diet32-ravintolaskentaohjelmalla (Aivo Finland Oy, Suomi). Opinnäytteeseen ruokapäiväkirja-analyyseistä otettiin mukaan tutkimusta edeltävän päivän hiilihydraattien saannit. Lisäksi ruokapäiväkirjoista tarkistettiin valmistautumisohjeissa kielletyiksi mainittujen ruoka-aineiden käyttö.

Muuttujissa oli suurta hajontaa ja fysiologisten vasteiden ajoitukset olivat yksilöllisiä. Tästä syystä tuloksista etsittiin eri muuttujien suurimmat ja pienimmät arvot sekä näiden arvojen ajanhetket tutkimushenkilöittäin. Muuttujista laskettiin myös muuttujien arvoja eri aikapisteissä kuvaavan vastekäyrän ja lähtötason väliin jäävä pinta-ala (engl. incremental area under the curve, ΔAUC), joka huomioi aikapisteiden etäisyydet toisistaan (kuva 7). ΔAUC lasketaan vähentämällä käyrän alle jäävästä kokonaispinta-alasta (kokonaisAUC) lähtötason alle jäävä pinta-ala (perusAUC). KokonaisAUC lasketaan kaavalla:

KokonaisAUC:

$$\sum_{i=0}^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (T_{i+1} - T_i)$$

Kaavassa muuttujan arvot y_i ja y_{i+1} on mitattu vastaavissa aikapisteissä T_i ja T_{i+1} . PerusAUC lasketaan kertomalla viimeinen aikapiste T_i lähtötilanteen muuttujan arvolla y_0 . Lähtöarvoon rajoittuva pinta-ala kuvaa herkemmin muuttujan muutoksia ajan suhteen kuin käyrän alle jäävä kokonaispinta-ala kuvaisi (Fekedulegn ym. 2007). Lähtöarvon alapuolelle sijoittuvat arvot huomioidaan kaavassa, koska siinä tapauksessa kaavassa lasketaan muuttujan arvon ja lähtöarvosta lähtevän x-akselin suuntaisen viivan alapuolelle rajoittuva negatiivinen pinta-ala. Sarjamittauksissa muuttujien suurimmat ja pienimmät arvot sekä ΔAUC -arvot kokoavat yhteen usean aikapisteiden mittaustuloksia (Matthews ym. 1990). Ne antavat enemmän havainnollista tietoa vasteesta kuin aikapisteittäin esitetyt muuttujien arvot. Kuvissa esitetään muuttujien mittaustulokset prosentteina lähtöarvosta 100 %, joka havainnollistaa tapahtuneita muutoksia sekä ΔAUC -arvoja.



Kuva 7. AUC-arvojen pinta-alat. Mukaeltu: Fekedulegn ym. 2007.

Kokonaissykevaihdelua kuvaavan SDNN-muuttujan sekä sydämen parasympaattista säätelyä kuvaavan RMSSD-muuttujan prosenttiarvot lähtöarvosta (100 %) etsittiin suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden ajanhetkiltä. Tällä pyrittiin selvittämään näiden muuttujien yhteyttä veren glukoosipitoisuuden muutoksiin. Kuvaajat sydämen sykkeen sekä sykevaihdelun SDNN-muuttujan arvojen yhteydestä plasman glukoosipitoisuuksiin ja toisaalta seerumin insuliinipitoisuuksiin muodostettiin tutkimushenkilöittäin.

Kunkin tutkittavan neljän mittauksen lähtötilanteen plasman glukoosipitoisuus-, syke-, SDNN-, RMSSD- ja kokonaisvoima-arvoista sekä LF-taajuusalueen sykevaihdelusta laskettiin variaatiokertoimet ja ilmoitettiin näiden keskiarvot. Variaatiokertoimet laskettiin jakamalla kokonaishajonta keskiarvolla ja kertomalla se 100 %:lla. Variaatiokertoimet kuvaavat muuttujissa tapahtuvaa biologista ja mittausteknistä vaihtelua mittauskertojen välillä (Tarkiainen ym. 2005). Tutkimushenkilöt jaettiin valmistautumisohteja noudattaneiden ryhmään ja ryhmään, jossa tutkimushenkilöt eivät joko noudattaneet ohjeita tai heidän mittaustilanteeseensa liittyi häiritseviä tekijöitä. Tällä tavoin arvioitiin näiden tekijöiden vaikutuksia variaatiokertoimiin. Ryhmäjaon kriteereinä olivat vitamiinilisien nauttiminen edellisenä päivänä, hyvin lyhyet yöunet, yskiminen mittausten aikana ja pyörtyminen laskimokanyylia laitettaessa. Plasman glukoosipitoisuussmittauksen kohdalla tutkittavat jaettiin edellisen päivän hiilihydraattisaantiohjeen noudattamisen mukaisesti.

Tilastoanalyysiohjelmana käytettiin SPSS 15.0 (SPSS inc, Chigaco, USA). Muuttujien normaalijakautuneisuus tarkistettiin Kolmogorov-Smirnovin testillä. Testin mukaan suurin osa muuttujista poikkesi normaalijakaumasta. Epänormaalia jakaumasta johtuen tulokset esitetään työssä mediaaneina sekä kvartiileina 1 ja 3.

Juomien sisäistä vertailua muuttujien arvoissa aikapisteiden kesken tehtiin ei-parametrisellä toistomittauksen Friedmanin ANOVA-testillä. Mikäli merkitsevää eroa juomien sisäisten aikapisteiden välillä löydettiin, etsittiin lähtöarvosta eroavien aikapisteiden arvoja epäparametrisella parittaisella Wilcoxonin sijalukujen merkkitestillä (myöhemmin Wilcoxonin testi). Mikäli arvo jossakin aikapisteessä erosi lähtöarvostaan, juomalla katsottiin olevan vaikutusta muuttujaan. Pareittain testattaessa p-arvon merkitsevyysrajana yleisesti käytetty 0,05 jaettiin Bonferoni-korjauksen mukaisesti testien lukumäärällä, jotta välttyttiin vääriä merkitsevyyksiltä eli tyyppin 1 virheeltä. Merkitsevyyden rajaksi tuli 0,007 (0,05/7), eikä merkitseviä eroja löydetty. Näiden jatkotestien tuloksia ei ole esitetty. Aikapisteiden arvojen lisäksi muuttujien suurimpien ja pienimpien arvojen eroavaisuutta lähtöarvoonsa testattiin pareittain Wilcoxonin testillä, jolloin merkitsevyyden rajana pidettiin $p < 0,05$.

Juomien välisiä eroja testattiin vertailemalla lähtöarvoja, suurimpia ja pienimpiä arvoja sekä Δ AUC-arvoja ensin Friedmanin testillä ja jos merkitsevyyttä löytyi ($p < 0,05$) testausta jatkettiin pareittain Wilcoxonin testillä. Bonferonikorjauksen jälkeen merkitseviä eroja löytyi vain vähän, siksi suuntaa-antavina merkitsevyysinä esitettiin tulokset, joiden $p < 0,05$.

SDNN- ja RMSSD-muuttujien arvojen eroavaisuutta suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden ajanhetkien välillä testattiin pareittain Wilcoxonin testillä.

5 Tulokset

5.1 Tutkimushenkilöt

Tutkimukseen rekrytoitiin kolmetoista henkilöä, joista viisi keskeytti tutkimuksen. Yksi keskeytys johtui terveystarkastuksessa diagnosoidusta astmasta ja toinen kaatumistapaturmasta, jossa nilkka murtui. Kolme keskeyttänyttä ilmoittivat syykseen ajanpuutteen ja työkiireet. Kaikki keskeytykset tapahtuivat terveystarkastuksen jälkeen, mutta ennen varsinaisia tutkimuskäyntejä. Lopullinen otoskoko oli kahdeksan. Näiden tutkittavien taustatiedot terveystarkastuksista ja kuntotesteistä ovat taulukossa 4.

Taulukko 4. Tutkittavien (n=8) taustatiedot.

Muuttuja (yksikkö)	Keskiarvo	Vaihteluväli	Viitearvot
Lepotilan mittaustulokset			
Ikä (v)	28,4	21 - 36	
BMI (kg • m ⁻²)	24,6	20,70 - 28,8	< 25 ¹
Leposyke (lyöntiä • min ⁻¹)	51	45 - 60	
Systolinen verenpaine (mmHg)	128	120 - 132	< 140 ²
Diastolinen verenpaine (mmHg)	70	62 - 78	< 90 ²
fS-kol (mmol • l ⁻¹)	4,6	3,6 - 6,0	< 5,0 ³
fS-HDL kol (mmol • l ⁻¹)	1,5	1,1 - 2,4	> 1,0 ³
fS-LDL kol (mmol • l ⁻¹)	2,7	1,8 - 3,8	< 3,0 ³
fS-trigly (mmol • l ⁻¹)	0,8	0,3 - 1,5	0,50 - 1,70 ³
B-Hb (g • l ⁻¹)	154,6	145 - 180	130 - 170 ³
B-Hkr (%)	46,9	44 - 49	40 - 50 ³
P-gluk (mmol • l ⁻¹)	5,7	5,3 - 6,2	
Kuntotestin mittaustulokset			
Maksimisyke (lyöntiä • min ⁻¹)	190	181 - 200	
VO ₂ maks (l)	4,0	3,5 - 4,7	
VO ₂ maks (ml • l ⁻¹)	50	44 - 54	
Kuntoluokka ⁴ (n=7)	5	4 - 7	

BMI = body mass index (suom. kehon painoindeksi), fS= paastoseeruminäyte, B = kokoverinäyte, P = plasmanäyte, kol = kolesterol, HDL = high density lipoprotein, LDL = low density lipoprotein, trigly = triglyseridit, Hb = hemoglobiini, Hkr = hematokriitti, gluk = glukoosi,

VO₂maks = maksimaalinen hapenottokyky

¹Duodecimin ja Suomen Lihavuustutkijat ry:n asettama työryhmä 2005, ²Suomalaisen

Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Verenpaineyhdistys ry:n asettama työryhmä 2007,

³Yhtyneet laboratoriot 2007, ⁴Kuntoluokkamäärittely perustuu yleisesti käytössä olevaan Shvartz & Reibold -luokitteluun (liite 5) (Shvartz ja Reibold 1990).

5.2 Tutkimukseen valmistautuminen

Yhdellä tutkittavalla oli luultavasti allergiasta johtuvaa yskää kaikkina tutkimuskertoina. Hän oli ainoa, joka tuli hiukan huonovointiseksi glukoosiliuoksen juomisen jälkeen. Lisäksi hän oli nauttinut 500 mg C-vitamiinilisää kahtena kertana tutkimusta edeltävänä päivänä. Ruokapäiväkirja-analyyysien perusteella kahdeksana kertana tutkimusta edeltävän päivän hiilihydraattien saanti ravinnosta jäi alle valmistautumisohjeessa olleen 150 gramman (taulukko 5). Neljä tutkimushenkilöä raportoi ohjeiden mukaisesti tutkimusta edeltävän päivän arki- ja harrastusliikunnan. Kaksi tutkittavaa työskenteli keittiössä, kaksi ilmoitti liikuntana mm. kävelyä, siivoilua ja lumitöitä. Kaksi tutkittavaa kertoi tutkimusaamun olleen kotona hyvin kiireinen, yksi tutkittava kertoi nukkuneensa huonosti kolme tutkimusta edeltävää yötä. Vuorotöitä teki kolme tutkittavaa.

Yksi tutkittava pyörtyi laskimokanyylin laitossa toisella käyntikerrallaan Fru+glu-juomaa tutkittaessa. Hänelle ei saatu laskimokanyyliä paikoilleen hänen viimeisellä käyntikerrallaan Flow™-juomaa tutkittaessa. Tutkimuksen mittausten aikana kolme tutkittavaa virtsasivat 60 minuutin aikapisteessä yhteensä kahdeksan kertaa, yksi lisäksi 120 minuutin aikapisteessä.

Taulukko 5. Tutkimusta edeltävän päivän aikana ravinnosta saadut hiilihydraattimäärät tutkimusjuomittain [keskiarvo (vaihteluväli)].

	Glukoosiliuos	Vesi	Flow™	Fru+glu
Hiilihydraattien saanti edellisenä vuorokautena (g)	200 (101-274)	231 (125-359)	186 (74-306)	233 (142-315)

Lähtötilanteiden mittaustuloksista lasketut muuttujien variaatiokertoimet ovat taulukossa 6. Taulukosta voi nähdä, että ohjeiden mukainen valmistautuminen tutkimukseen pienensi lähtötilanteen mittauksen variaatiokertoimia eli mittauskertojen välistä vaihtelua lähes kaikissa muuttujissa.

Taulukko 6. Mittausten lähtöarvoista tutkimushenkilöittäin lasketut variaatiokertoimet [keskiarvot (vaihteluväli)] yhteensä: n = 8, ryhmä 1 ja 2 n = 4, jollei toisin mainittu.

Muuttuja	Ryhmä 1	Ryhmä 2	Ryhmä 1 ja 2
P-glukoosi	5,3 (3,5 - 8,6) n=5	2,1 (1,7 - 2,5) n=3	4,0 (1,7 - 8,6)
Syke	6,0 (4,1 - 8,7)	6,0 (3,0 - 7,7)	5,2 (3,0 - 8,7)
SDNN	26,7 (15,5 - 44,3)	20,9 (13,0 - 24,9)	23,8 (13,0 - 44,3)
RMSSD	21,2 (6,9 - 46,2)	17,5 (7,9 - 27,9)	19,4 (6,9 - 46,2)
Kokonais-sykevaihtelu	47,9 (37,2 - 70,5)	30,5 (18,4 - 37,6)	39,2 (18,4 - 70,5)
LF-taajuusalueen sykevaihtelu	52,5 (35,2 - 77,7)	49,1 (13,9 - 84,3) n=2	51,4 (13,9 - 84,3)

Ryhmä 1 ei noudattanut valmistautumisohjeita tai mittaustilanteessa oli häiritseviä tekijöitä, ryhmä 2 noudatti valmistautumisohjeita.

Tutkimusta edelsi 12 tunnin paasto. Paasto-ohjeen noudattamista arvioitiin mittauksen lähtötilanteiden plasman glukoosipitoisuuksien avulla. Näiden glukoosipitoisuuksien mediaani oli 5,1 mmol/l sekä vaihteluväli 4,5 - 5,9 mmol/l. Tulokset olivat paastonäytteen viitearvojen rajoissa, jotka ovat 4,0 - 6,1 mmol/l (HUSLAB 2007). Tutkimusaamun rauhallisuutta kuvastivat melko alhaiset leposykkeet mittausten lähtötilanteissa. Sykemittausten mediaani oli 48,7 lyöntiä minuutissa ja vaihteluväli 39,7 - 60,8 lyöntiä minuutissa. Leposykkeelle ei ole viitearvoja, mutta normaalisti se on noin 60 lyöntiä minuutissa (Guyton ja Hall 2006).

5.3 Veren glukoosi- ja insuliinipitoisuudet

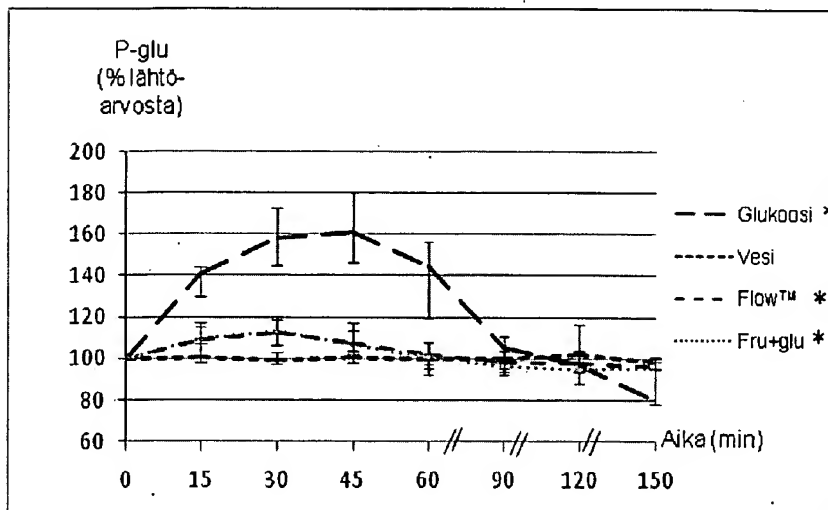
Plasman glukoosipitoisuudet

Laskimokanyylin puuttumisen takia yhdeltä tutkittavalta ei määritetty FlowTM-juoman nauttimisen jälkeen plasman glukoosipitoisuutta. Toisen tutkittavan Fru+glu-juoman jälkeisen viimeisen aikapisteen plasman glukoosimääritys puuttui verinäytteen käsittelyn ongelmien takia.

Juomien sisäisissä aikapisteen vertailuissa Friedmanin testillä veren glukoosipitoisuuksissa eri aikapisteen välillä oli eroja glukoosiliuoksella sekä FlowTM- ja Fru+glu-juomilla ($p < 0,001$), mutta vedellä ei ($p = 0,852$) (kuva 8). Glukoosiliuoksen ja Fru+glu-juoman jälkeen sekä suurimmat että pienimmät plasman glukoosipitoisuudet erosivat pareittain testattuna lähtötilanteistaan (taulukko 7). Sen sijaan FlowTM-juoman jälkeen vain suurin veren glukoosipitoisuus erosi merkitsevästi lähtötilanteestaan. Veden juominen ei puolestaan aiheuttanut veren glukoosipitoisuuden lähtöarvosta eroavaa suurimpaa tai pienimpää pitoisuutta.

Juomien välisessä vertailussa glukoosiliuoksen aiheuttama suurin veren glukoosipitoisuus oli suuntaa-antavasti suurempi kuin muilla juomilla ja veden juomisen aiheuttama puolestaan muita

pienempi (taulukko 7). Glukoosiliuoksen juomisen aiheuttaman veren glukoosipitoisuuden ΔAUC -arvo oli suurin ja erosikin suuntaa-antavasti muiden juomien ΔAUC -arvoista.



Kuva 8. Plasman glukoosipitoisuudet prosentteina lähtöarvosta tutkimusjuomittain. Mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3. *Juoman sisäisessä aikapisteiden vertailussa on toisistaan eroavia plasman glukoosipitoisuuksia (Friedmanin testi, $p < 0,05$).

Seerumin insuliinipitoisuudet

Verinäytteen punasolujen hajoaminen eli hemolyysi estää seerumin insuliinipitoisuuden määrittämisen. Siksi insuliinimääritykset tehtiin vain osasta näytteistä. Ainoastaan yhdeltä tutkittavalta veren insuliinipitoisuusmääritykset onnistuivat kaikissa aikapisteissä, sen sijaan seitsemästä tutkimuskerrasta insuliinimäärityksiä ei tehty lainkaan.

Juomien sisäisissä aikapisteiden vertailuissa veren insuliinipitoisuudet erosivat toisistaan glukoosiliuoksella ($p = 0,02$) sekä Flow™- ($p = 0,011$) ja Fru+glu-juomilla ($p = 0,001$), mutta vedellä eivät ($p = 0,525$). Glukoosiliuoksen, Flow™- ja Fru+glu-juomien jälkeiset veren suurimmat insuliinipitoisuudet erosivat lähtöarvoistaan, mutta veden juonnin jälkeen erosi lähtöarvostaan pienin pitoisuus (taulukko 7).

Juomien välisessä vertailussa glukoosiliuos aiheutti suuntaa-antavasti suurimmat insuliinivasteet ja veden juominen pienimmät. Veren insuliinipitoisuuksista ei laskettu ΔAUC -arvoja useiden näytteiden analyysien puuttumisen vuoksi.

Taulukko 7. Plasman glukoosipitoisuuden ja seerumin insuliinipitoisuuden lähtöarvot sekä seuranta-ajan suurimmat ja pienimmät arvot sekä vastekäyrän ja lähtötason väliin jäävät pinta-alat tutkimusjuomittain [mediaani (kvartiili 1; kvartiili 3)].

	Glukoosiliuos	Vesi	Flow TM	Fru+glu	Juomien vertailu ¹
Plasman glukoosipitoisuus (mmol • l ⁻¹ ; ΔAUC ² mmol • l ⁻¹ • min)					
Lähtöarvo	5,1 (4,8; 5,3)	5,2 (4,7; 5,4)	5,3 (5,0; 5,6)	5,0 (4,8; 5,6)	0,399
Suurin arvo	8,45 ^a (7,90; 9,28)	5,30 ^c (5,15; 5,40)	6,30 ^{a,b} (5,90; 6,40)	6,05 ^{a,b} (5,85; 6,50)	0,001
Pienin arvo	4,10 ^a (3,85; 4,70)	4,95 (4,75; 5,08)	5,01 (4,90; 5,10)	4,75 ^a (4,50; 5,28)	0,039
ΔAUC	125,3 ^b (75,9; 214,1)	3,0 ^a (-27,2; 27,4)	18,0 ^a (-9,0; 27,8)	-3,4 ^a (-34,9; 58,7)	0,002
Seerumin insuliinipitoisuus (mU • l ⁻¹ ; ΔAUC mU • l ⁻¹ • min)					
Lähtöarvo	3,1 (2,7; 4,1)	4,5 (2,6; 5,4)	4,4 (3,2; 5,1)	3,4 (2,9; 5,1)	0,516
Suurin arvo	37,6 ^a (22,4; 53,4)	3,9 ^c (2,7; 5,9)	6,6 ^{a,b} (4,6; 7,6)	8,6 ^{a,b} (7,9; 9,5)	0,003
Pienin arvo	4,2 ^a (2,5; 7,3)	3,1 ^{a,b} (2,4; 4,2)	2,4 ^b (1,7; 4,6)	2,9 ^a (2,1; 3,7)	0,007

¹ Juomien välisen vertailun p-arvo. Vertailu tehtiin Friedmanin testillä. Samalla rivillä toisistaan suuntaa-antavasti eroavat arvot on merkitty eri yläviitekirjaimin (Wilcoxonin testi 0,007 < p < 0,05).

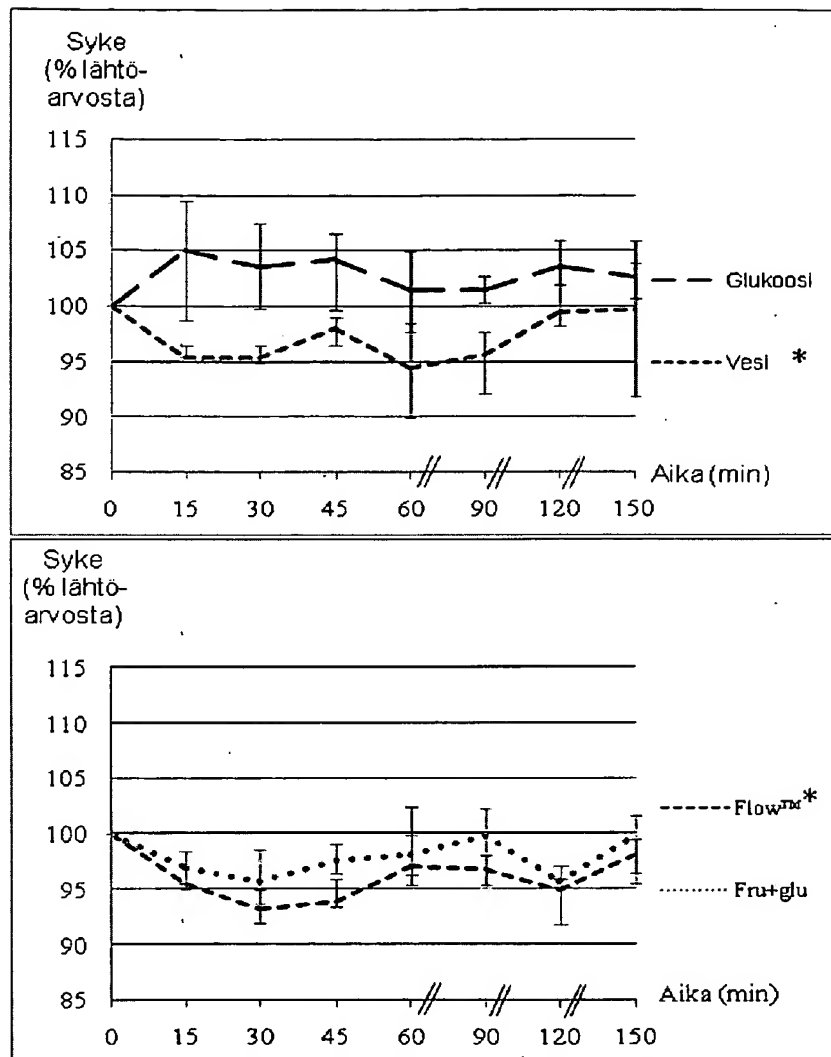
² ΔAUC = vastekuvaajan ja lähtötason väliin jäävä pinta-ala (engl. area under the curve, AUC).

^a Eroaa ko. juoman lähtötilanteen arvosta (Wilcoxonin testi p < 0,05).

5.4 Syke ja verenpaine

Sydämen syke

Kunkin juoman sisäisissä aikapisteiden sykearvojen vertailuissa vedellä (p = 0,04) ja FlowTM-juomalla (p = 0,003) sykkeet erosivat aikapisteiden kesken. Parittaisessa testissä glukoosiliuoksen jälkeinen suurin syke ja Fru+glu-juoman jälkeen pienin syke poikkesivat lähtötilanteistaan (taulukko 8). Kuitenkaan juomien välisissä vertailuissa Friedman-testillä pienimmissä tai suurimmissa sykkeissä tai sykkeiden ΔAUC-arvoissa ei ollut eroja. ΔAUC-arvojen mediaanit olivat alle nollan veden sekä Fru+glu- ja FlowTM-juomien osalta (taulukko 8). Tutkimushenkilöittäin tehdyissä kuvaajissa ei näy yhteyttä veren glukoosi- tai insuliinipitoisuuksien ja sydämen sykkeen välillä (liite 9).



Kuva 9. Sykkeet prosentteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain, kuvaajat ovat selvyiden vuoksi kahdessa eri kuvassa, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3. *Juoman sisäisessä aikapisteiden vertailussa on toisistaan eroavia sykearvoja (Friedmanin testi, $p < 0,05$).

Taulukko 8. Sykkeen ja verenpaineen lähtöarvot sekä seuranta-ajan suurimmat ja pienimmät arvot sekä vastekäyrän ja lähtötason väliin jäävät pinta-alat tutkimusjuomittain [mediaani (kvartiili 1; kvartiili 3)].

	Glukoosiliuos	Vesi	Flow™	Fru+glu	Juomien vertailu ¹
Syke (lyöntiä • min ⁻¹ ; Δ AUC ² lyöntiä)					
Lähtöarvo	47,6 (45,5; 49,4)	52,8 (45,5; 56,8)	50,4 (48,0; 52,5)	47,3 (44,5; 56,8)	0,440
Suurin arvo	50,8* (47,5; 55,5)	53,6 (51,9; 55,9)	49,3 (46,1; 54,6)	49,2 (46,5; 55,8)	0,256
Pienin arvo	45,3 (43,8; 50,4)	48,4 (43,3; 51,7)	45,6 (42,5; 49,0)	45,0* (42,0; 52,3)	0,717
Δ AUC	239 (-208; 323)	-191 (-650; 101)	-241 (-411; -159)	-217 (-453; -56)	0,241
Systolinen verenpaine (mmHg, Δ AUC mmHg • min), lyönti lyönniltä mitta					
Lähtöarvo	126,4 (121,2; 132,5)	123,1 (116,0; 136,6)	126,9 (112,9; 134,7)	119,5 (109,4; 137,0)	0,583
Suurin arvo	142,0* ^{ab} (135,8; 150,1)	145,6* ^a (143,5; 162,5)	151,1* ^{ab} (139,5; 162,1)	145,5* ^{ab} (136,9; 153,7)	0,050
Pienin arvo	125,1 (116,2; 140,3)	129,9 (122,6; 144,2)	133,6 (118,7; 140,3)	127,8 (111,7; 139,0)	0,136
Δ AUC	919 (513; 2101)	2333 (783; 4457)	1828 (1334; 3468)	1906 (1611; 2796)	0,308
Diastolinen verenpaine (mmHg, Δ AUC mmHg • min), lyönti lyönniltä mitta					
Lähtöarvo	66,6 (61,2; 70,6)	65,4 (62,6; 70,2)	65,9 (59,2; 72,0)	66,6 (58,2; 72,1)	0,930
Suurin arvo	75,1* ^b (71,8; 81,1)	80,0* ^a (74,1; 86,6)	81,1* ^a (75,2; 88,8)	77,1* ^{ab} (73,6; 80,5)	0,015
Pienin arvo	67,2 (61,4; 72,2)	70,7 (63,3; 73,5)	69,7 (64,2; 73,3)	69,0 (63,0; 72,3)	0,119
Δ AUC	356 (-62; 1168)	1073 (743; 2078)	1001 (319; 2125)	1025 (372; 1337)	0,154

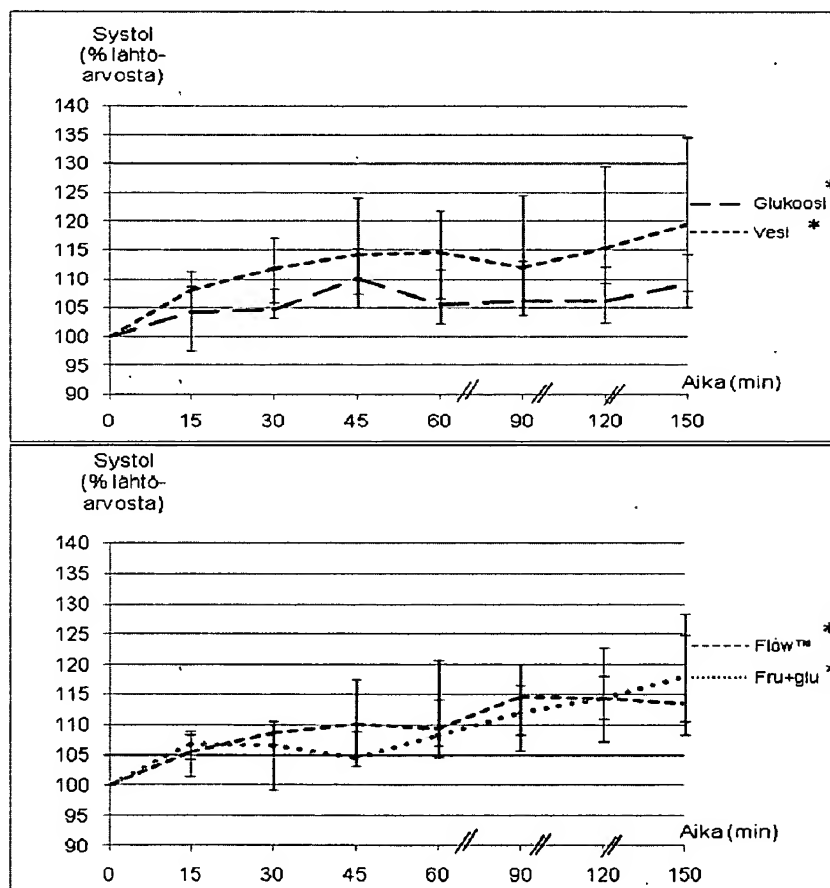
¹ Juomien välisen vertailun p-arvo. Vertailu tehtiin Friedmanin testillä. Samalla rivillä toisistaan suuntaa-antavasti eroavat arvot on merkitty eri yläviitekirjaimin (Wilcoxonin testi 0,007 < p < 0,05).

² Δ AUC = vastekuvaajan ja lähtötason väliin jäävä pinta-ala (engl. area under the curve, AUC).

*Eroaa ko. juoman lähtötilanteen arvosta (Wilcoxonin testi p < 0,05).

Verenpaine

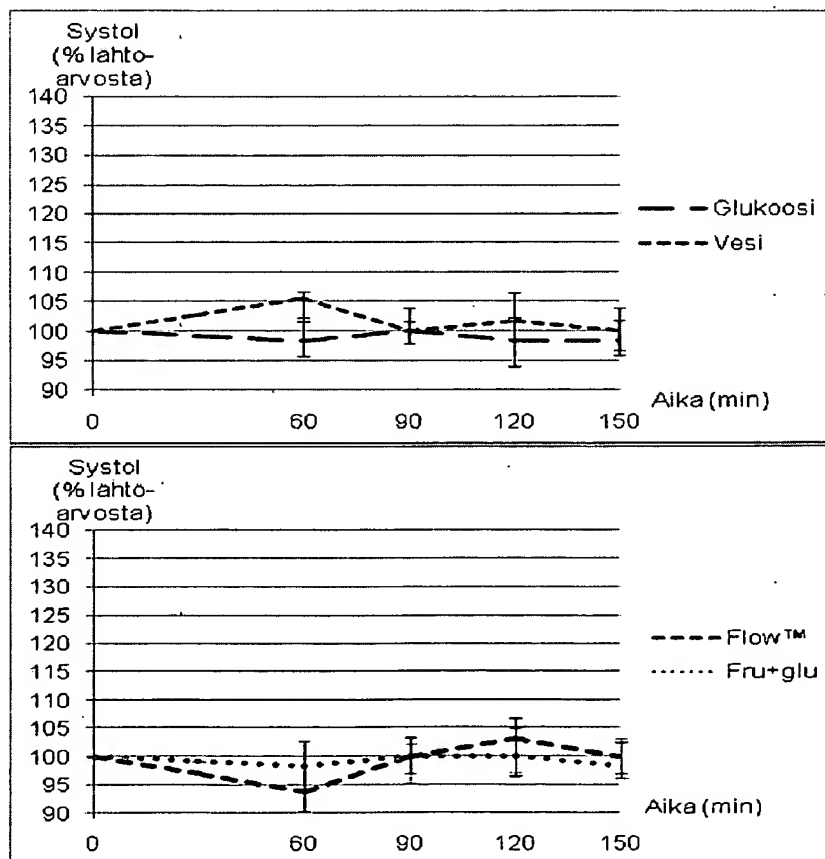
Jatkuvatoimisen verenpainemittauksen perusteella sekä systolisissa että diastolisissa verenpainearvoissa oli eroja aikapisteiden välillä kaikilla neljällä tutkimusjuomalla. Systolinen verenpaine nousi kunkin juoman yhteydessä (kuva 10). Parittaisessa testauksessa systolisen verenpaineen suurin arvo erosi jokaisen juoman kohdalla lähtöarvoistaan (taulukko 8). Juomien välisessä vertailussa glukoosiliuoksen aiheuttama suurin arvo oli suuntaa-antavasti pienempi kuin veden vastaava.



Kuva 10. Systolinen verenpaine prosentteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain, kuvaajat ovat selvyiden vuoksi kahdessa eri kuvassa, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3. *Juoman sisäisessä aikapisteiden vertailussa on toisistaan eroavia verenpainearvoja (Friedmanin testi, $p < 0,05$).

Diastolisen verenpaineen suurimmat arvot glukoosiliuoksen, FlowTM- ja Fru+glu-juomien jälkeen erosivat näiden mittausten lähtötilanteiden arvoista (taulukko 8). Juomien välisessä vertailussa glukoosiliuoksen aiheuttama diastolisen verenpaineen suurin arvo oli suuntaa-antavasti veden ja FlowTM-juoman vastaavia pienempi. Juomien ΔAUC -arvot eivät sen sijaan eronneet toisistaan.

Verenpainetta mitattiin manuaalisesti lähtötilanteessa sekä 60, 90, 120 ja 150 minuutin aikapisteissä (kuva 11). Manuaalisissa mittauksissa systolinen verenpaine ei eronnut millään juomalla aikapisteiden kesken. Arvoissa ei ole jatkuvan mittauksen tavoin ajan suhteen nousevaa suuntausta. Manuaalisesti mitatussa diastolisessa verenpaineessa oli eroa aikapisteiden kesken ainoastaan Fru+glu-juomalla.

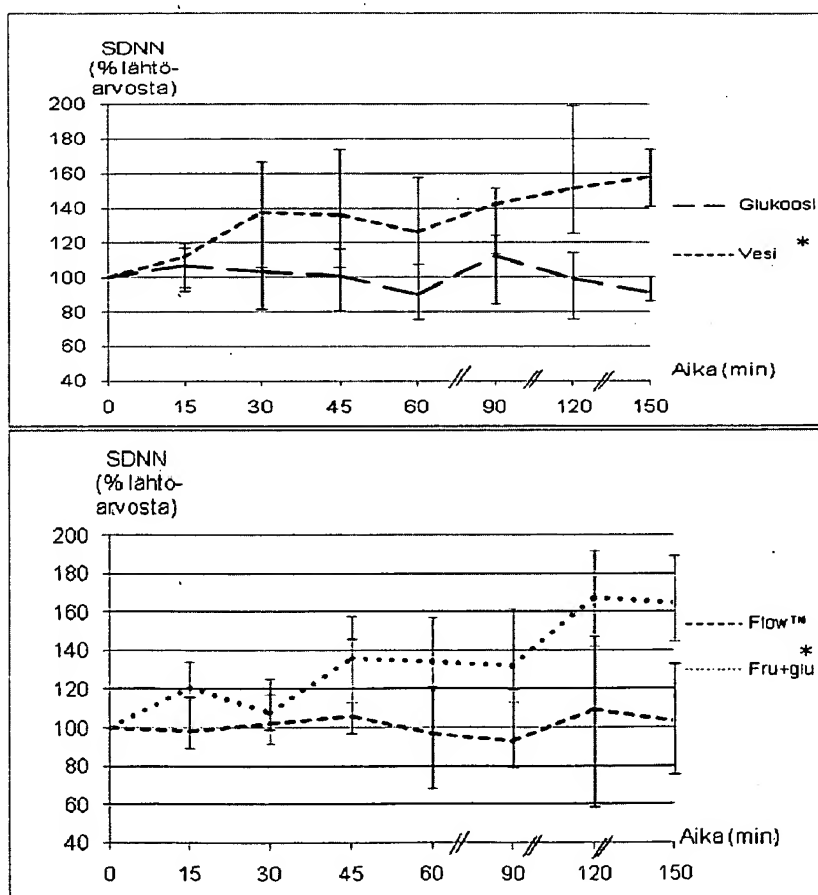


Kuva 11. Manuaalisesti mitattu systolinen verenpaine prosentteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain, kuvaajat ovat selvyiden vuoksi kahdessa eri kuvassa, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3.

5.5 Sykevaihtelun aikamuuttujat

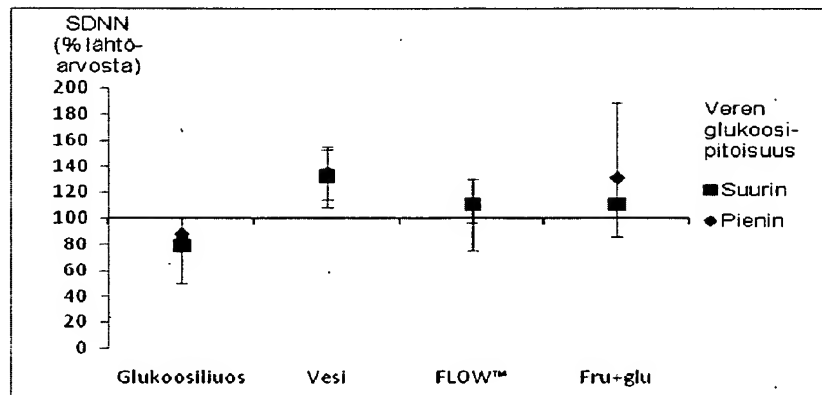
SDNN

Kokonaissykevaihtelua kuvaavan aikamuuttujan SDNN:n arvot muuttuivat vedellä ($p = 0,023$) sekä Fru+glu-juomalla ($p = 0,009$) Friedmanin testillä tehdyissä juomien sisäisissä aikapistevertailuissa (kuva 12). Parittaisessa vertailussa sekä veden juonnin että Fru+glu- ja FlowTM-juomien jälkeen suurimmat ja glukoosiliuoksen juomisen jälkeen pienin SDNN-arvo erosivat lähtöarvoistaan (taulukko 9). Juomien välisissä vertailuissa ei kuitenkaan suurimpien eikä pienimpien SDNN-arvojen välillä ollut eroja. FlowTM-juoman aiheuttama SDNN-arvoista laskettu ΔAUC oli suuntaantavasti pienempi kuin veden juonnin vastaava (taulukko 9).



Kuva 12. Sykevaihtelun SDNN-muuttuja prosenteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain, kuvaajat ovat selvyiden vuoksi kahdessa eri kuvassa, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3. *Juoman sisäisessä aikapisteiden vertailussa on toisistaan eroavia SDNN-arvoja (Friedmanin testi, $p < 0,05$).

Juomien mahdollisesti aiheuttamien SDNN-muutosten yhteyttä plasman glukoosipitoisuuden muutoksiin arvioitiin tarkastelemalla pienimpien ja suurimpien veren glukoosipitoisuuksien ajanhetkiin sijoittuvien SDNN-arvojen prosenttimuutoksia lähtöarvoistaan. Pareittain testattuna minkään juoman kohdalla suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden aikaiset SDNN-arvot eivät eronneet toisistaan. Myöskään tutkimushenkilöittäin tehdyissä kuvaajissa, joissa SDNN-arvot näkyvät samalla ajan hetkellä mitatun glukoosi- tai insuliinipitoisuuksien kanssa ei näkynyt yhteyttä muuttujien välillä (liite 9).



Kuva 13. SykevaihTELUN SDNN-muuttuja prosentteina lähtöarvoista suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden hetkellä tutkimusjuomittain, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3.

Taulukko 9. SDNN, RMSSD ja pNN50 lähtöarvot sekä seuranta-ajan suurimmat ja pienimmät arvot sekä vastekäyrän ja lähtötason väliin jäävät pinta-alat tutkimusjuomittain [mediaani (kvartiili 1; kvartiili 3)].

	Glukoosiliuos	Vesi	Flow™	Fru+glu	Juomien vertailu ¹
SDNN (ms; ΔAUC^2 ms • min)					
Lähtöarvo	104,3 (92,0; 128,0)	75,0 (58,5; 104,8)	102,7 (83,8; 131,4)	67,1 (47,7; 131,0)	0,187
Suurin arvo	119,3 (107,1; 154,4)	126,3* (110,4; 141,9)	144,2* (121,9; 159,0)	132,9* (96,7; 182,4)	0,290
Pienin arvo	71,1* (61,4; 93,6)	90,6 (60,7; 101,9)	73,3 (57,0; 97,7)	71,2 (62,0; 97,2)	0,930
ΔAUC	1190 ^{ab} (-1246; 2217)	4280 ^a (648; 5739)	827 ^b (-2870; 3021)	3574 ^{ab} (1104; 6317)	0,044
RMSSD (ms; ΔAUC ms • min)					
Lähtöarvo	95,8 (55,6; 121,7)	75,4 (38,4; 112,1)	95,8 (52,9; 128,0)	63,8 (42,9; 111,9)	0,717
Suurin arvo	102,8 (72,6; 122,6)	114,3* (80,5; 141,4)	123,4* (96,6; 131,9)	105,1* (67,0; 135,2)	0,327
Pienin arvo	64,4* (48,7; 86,0)	74,5 (42,3; 101,3)	62,5* (43,0; 83,7)	63,0 (44,7; 90,0)	0,466
ΔAUC	174 (-1401; 408)	768 (345; 5164)	268 (-2594; 1405)	1624 (-2488; 2459)	0,070
pNN50 (%; ΔAUC % • min)					
Lähtöarvo	56,4 (37,5; 67,8)	47,2 (20,8; 65,2)	57,1 (27,4; 65,7)	43,7 (24,5; 66,6)	0,392
Suurin arvo	62,2* (42,5; 73,6)	62,5* (53,8; 72,2)	62,7* (44,0; 72,4)	62,6* (45,0; 75,3)	0,825
Pienin arvo	46,1* (22,6; 53,9)	44,1 (21,1; 58,4)	45,2 (19,0; 57,0)	37,1 (19,0; 52,1)	0,241
ΔAUC	-363 (-1162; 147)	853 (-207; 2524)	556 (-661; 1090)	918 (-22; 3751)	0,062

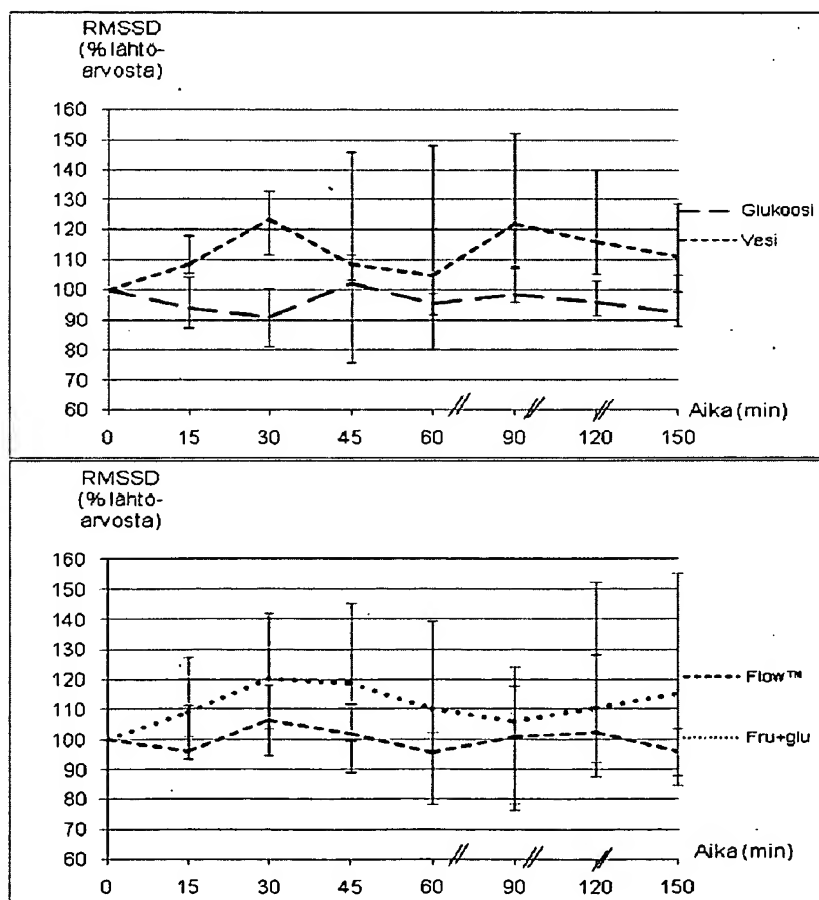
¹ Juomien välisen vertailun p-arvo. Vertailu tehtiin Friedmanin testillä. Samalla rivillä toisistaan suuntaa-antavasti eroavat arvot on merkitty eri yläviitekirjaimin (Wilcoxonin testi $0,007 < p < 0,05$).

² ΔAUC = vastekuvaajan ja lähtötason väliin jäävä pinta-ala (engl. area under the curve, AUC).

*Eroaa ko. juoman lähtötilanteen arvosta (Wilcoxonin testi $p < 0,05$).

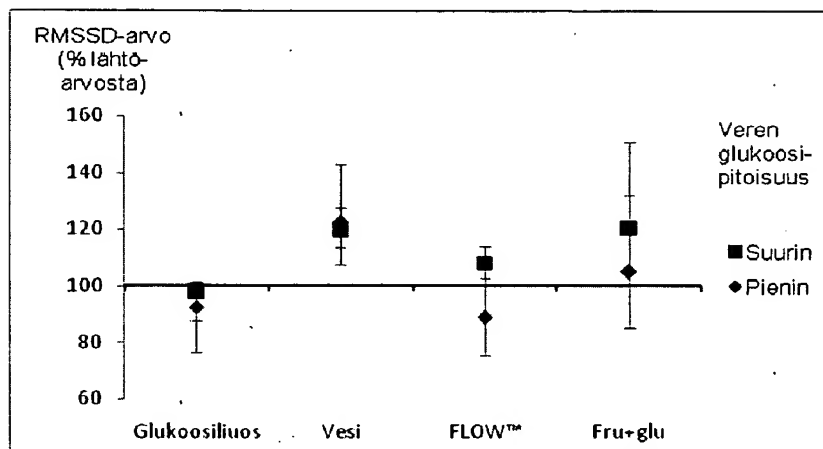
RMSSD ja pNN50

Sydämen parasympaattista säätelyä kuvastavat sykevaihtelun aikamuuttujat RMSSD ja pNN50. Minkään juoman sisäisessä vertailussa ei näissä arvoissa ollut eroja aikapisteiden kesken (kuva 14). Glukoosiliuoksen juomisen jälkeen pienin RMSSD-arvo sekä suurin ja pienin pNN50-arvo erosivat lähtötilanteistaan (taulukko 9). Glukoosiliuoksen aiheuttamat ΔAUC -arvot olivat melko pieniä. Veden juonnin jälkeen lähtöarvoista erosivat merkitsevästi kummankin muuttujan suurimmat arvot ja ΔAUC -arvot olivat suurimmalla osalla tutkittavista positiivisia. Fru+glu-juoman nauttimisen jälkeen kummankin muuttujan suurimmat arvot erosivat lähtöarvoistaan, kuitenkin ΔAUC -arvoissa oli vaihtelua. FlowTM-juoman kohdalla suurin ja pienin RMSSD-arvo sekä suurin pNN50-arvo erosivat lähtöarvoistaan. Juomien välisissä vertailuissa ei muuttujien suurimmissa tai pienimmissä arvoissa tai ΔAUC -arvoissa ollut eroja (taulukko 9).



Kuva 14. Sykevaihtelun RMSSD-muuttuja prosentteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain, kuvaajat ovat selvytyden vuoksi kahdessa eri kuvassa, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3.

Juomilla ei havaittu aivan selkeitä vaikutuksia RMSSD-arvoihin. Muuttuja edustaa kuitenkin sydämen parasympaattista säätelyä ja siksi SDNN-arvojen tapaan tarkasteltiin myös RMSSD-arvojen yhteyttä suurimpiin ja pienimpiin veren glukoosipitoisuuksiin (kuva 15). Kuitenkaan myöskään RMSSD:n kohdalla pareittain testatut arvot suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden ajanhetkellä eivät eronneet toisistaan millään juomalla.



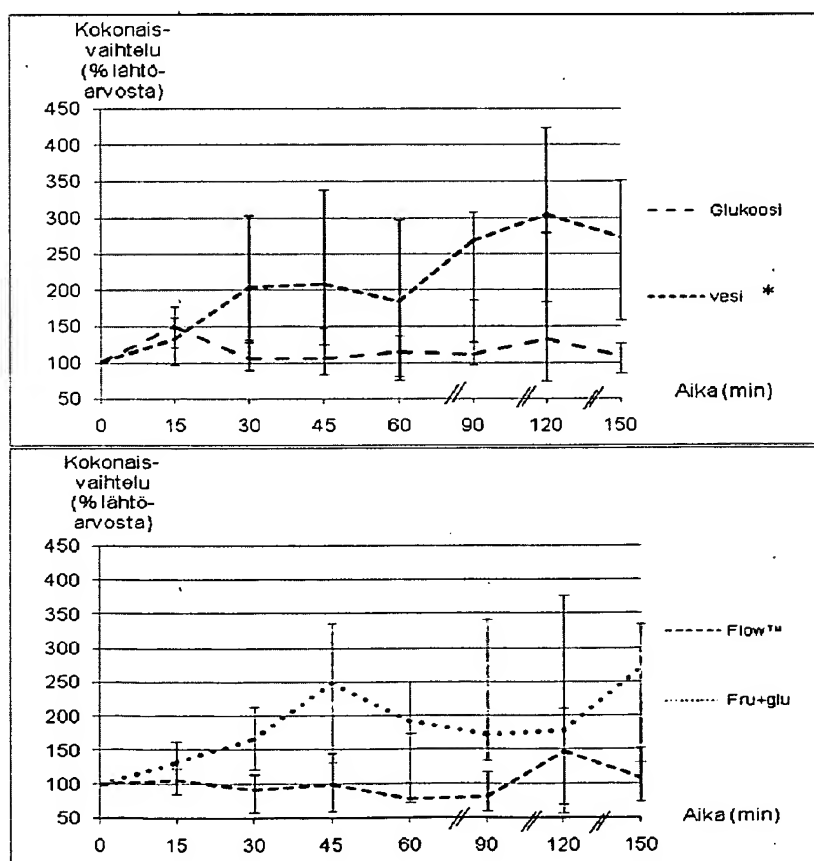
Kuva 15. SykevaihTELUN RMSSD-muuttuja prosentteina lähtöarvoista suurimman ja pienimmän veren glukoosipitoisuuden hetkellä tutkimusjuomittain, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3.

5.6 Sykevaihtelun taajuusmuuttujat

Kokonaissykevaihtelu

Kokonaissykevaihtelun aikamuuttujan SDNN:n tapaan taajuustarkastelun kokonaisvaihtelussa oli eroja aikapisteiden kesken vedellä ($p = 0,038$), mutta Fru+glu-juomalla vain suuntaa-antavasti ($p = 0,087$) (kuva 16). Aikapisteiden kokonaissykevaihtelun arvot eivät eronneet glukoosiliuoksella eivätkä FlowTM-juomalla. Kaikkien tutkimusjuomien jälkeen taajuustarkastelun kokonaisvaihtelun suurimmat arvot erosivat lähtöarvoistaan, lisäksi FlowTM-juoman jälkeen erosi myös pienin arvo (taulukko 10).

Suurimmat ja pienimmät kokonaisvaihtelun arvot eivät eronneet juomien välisissä vertailuissa. Kokonaissykevaihtelusta laskettu ΔAUC -arvo oli vedellä ja Fru+glu-juomalla FlowTM-juoman aiheuttamaa arvoa suurempia. Glukoosiliuoksen arvo ei eronnut muista juomista (taulukko 10).



Kuva 16. Kokonaissykevaihtelu prosenteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain, kuvaajat ovat selvyiden vuoksi kahdessa eri kuvassa, mediaanit sekä kvartiilit 1 ja 3. *Juoman sisäisessä aikapisteiden vertailussa on toisistaan eroavia kokonaisvaihtelun arvoja (Friedmanin testi, $p < 0,05$).

Taulukko 10. Tutkimusjuomien aiheuttamat sykevaihtelun taajuusmuuttujien kokonaisvaihtelun ja HF-taajuusalueen sykevaihteluiden lähtöarvot sekä seuranta-ajan suurimmat ja pienimmät arvot sekä vastekäyrän ja lähtötason väliin jäävät pinta-alat tutkimusjuomittain [mediaani (kvartiili 1; kvartiili 3)].

	Glukoosi	Vesi	Flow™	Fru+glu	Juomien vertailu ¹
Kokonaisvaihtelu (ms^2 ; $\Delta\text{AUC}^2 \text{ ms}^2 \cdot \text{min}$)					
Lähtö- arvo	9628 (4198; 15157)	5037 (3061; 9921)	10572 (5964; 18596)	6593 (2192; 13050)	0,092
Suurin arvo	15404* (12552; 22036)	16350* (12160; 22703)	20676* (15499; 22200)	24031* (9273; 38403)	0,348
Pienin arvo	5124 (3810; 7497)	7054 (3723; 9124)	6148* (3394; 10462)	4467 (3506; 8846)	0,930
ΔAUC	375309 ^{ab} (130556; 794397)	1027334 ^a (141248; 1100141)	182908 ^b (-519013; 550165)	838496 ^a (291677; 1266293)	0,047
Sykevaihtelu HF-taajuusalueella (ms^2 ; $\Delta\text{AUC}^2 \text{ ms}^2 \cdot \text{min}$), n = 6					
Lähtö- arvo	2038 ^b (791; 5626)	1180 ^a (305; 2503)	2232 ^b (469; 5635)	875 ^{ab} (537; 3715)	0,038
Suurin arvo	3945 (1215; 5769)	4120* (1298; 6064)	4013* (1668; 8001)	2698* (1332; 7160)	0,457
Pienin arvo	1205* (358; 2621)	1511 (488; 2858)	1294* (408; 2714)	1046 (586; 2667)	0,978
ΔAUC	-3069 ^b (-103913; 29761)	137865 ^a (49496; 288006)	14783 ^b (-41508; 63918)	101895 ^{ab} (33332; 266204)	0,047
Normalisoitu sykevaihtelu HF-taajuusalueella, HFnu (ms^2 ; $\Delta\text{AUC}^2 \text{ ms}^2 \cdot \text{min}$), n = 6					
Lähtö- arvo	45,9 (30,8; 60,4)	33,8 (21,8; 58,8)	47,1 (31,3; 54,7)	45,7 (31,3; 54,7)	0,572
Suurin arvo	55,8* (38,3; 66,9)	55,6 (40,9; 73,5)	70,3* (54,7; 73,0)	58,5* (35,4; 68,2)	0,172
Pienin arvo	38,0* (22,5; 49,2)	26,2 (19,1; 39,9)	36,0* (20,2; 45,5)	28,7* (19,2; 45,2)	0,060
ΔAUC	13,1 (-324; 1006)	1014 (-1295; 2400)	186 (-765; 1430)	-718 (-1239; -317)	0,187

¹ Juomien välisen vertailun p-arvo. Vertailu tehtiin Friedmanin testillä. Samalla rivillä toisistaan suuntaa-antavasti eroavat arvot on merkitty eri yläviitekirjaimin (Wilcoxonin testi $0,007 < p < 0,05$).

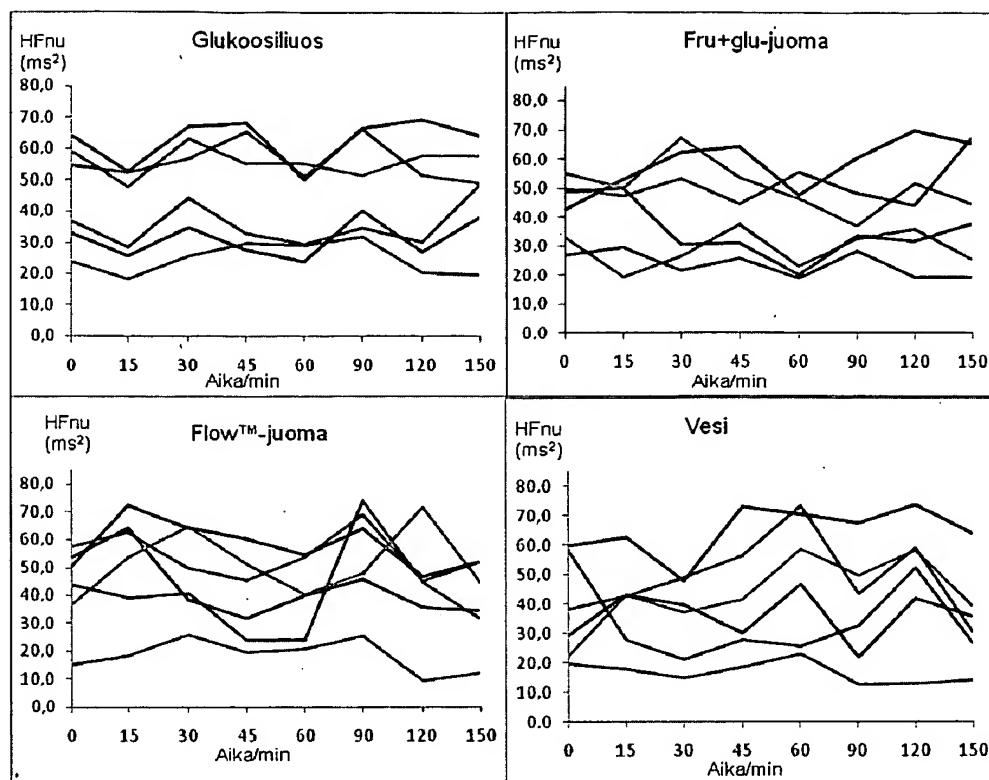
² ΔAUC = vastekuvaajan ja lähtötason väliin jäävä pinta-ala (engl. area under the curve, AUC).

*Eroaa ko. juoman lähtötilanteen arvosta (Wilcoxonin testi $p < 0,05$).

HF- ja LF-taajuusalueille sijoittuva sykevaihtelu

Mikään tutkimusjuomista ei muuttanut hengitystiheyttä. Kuitenkin kahdella tutkittavalla hengitystiheys oli hyvin harvaa, joten heidän sykerekisteröintinsä poistettiin HF- ja LF-taajuusalueiden analyysistä. Taajuustarkastelussa vaihtelun jakautumisessa HF-taajuusalueille oli tasoeroja ja HF-taajuusalueelle jakautuvassa vaihtelussa juomien väliset lähtöarvot poikkesivatkin toisistaan ($p = 0,038$). Juomien sisäisissä aikapisteiden vertailuissa Friedman-testillä glukoosiliuksella sekä vedellä oli suuntaa-antavasti eroja aikapisteiden välillä vaihtelussa HF-taajuusalueella ($p = 0,06$). Glukoosiliuksen nauttimisen jälkeen HF-taajuusalueen vaihtelun pienin arvo ja veden sekä Fru+glu-juoman jälkeinen suurin arvo erosivat lähtötilanteesta pareittaisissa testeissä (taulukko 10). Veden sekä Fru+glu-juoman aiheuttama ΔAUC -arvo oli selkeästi positiivinen. FlowTM-juoman juomisen jälkeen sekä pienin että suurin vaihtelu HF-taajuusalueella erosi lähtöarvoistaan. HF-muuttujan arvoja verrattiin juomien kesken ΔAUC -arvojen osalta. Glukoosiliuksen ja FlowTM-juoman aiheuttamat ΔAUC -arvot olivat suuntaa-antavasti pienempiä kuin veden (taulukko 10). Tässä vertailussa on kuitenkin huomioitava lähtötilanteessa juomien välinen ero HF-taajuusalueelle sijoittuvassa sykevaihtelussa.

Normalisoidun sykevaihtelun jakautumisen lähtötasot HF-taajuusalueelle eivät eronneet juomien kesken. HFnu-muuttujan arvot muuttuivat merkitsevästi glukoosiliuksella ($p = 0,011$) ja suuntaa-antavasti myös FlowTM-juomalla ($p = 0,05$) juomien sisäisissä aikapisteiden vertailuissa. Kaikkien juomien mahdollisesti aiheuttamien muutosten suunnat olivat epäselviä, koska glukoosiliuksen sekä FlowTM-ja Fru+glu-juomien nauttimisen jälkeen sekä suurin että pienin arvo erosivat lähtöarvostaan (taulukko 10). Veden juonnin jälkeen ei sen sijaan kumpikaan arvo eronnut lähtöarvostaan. Myös koehenkilöittäin tarkasteltuina HFnu-arvot risteilivät edestakaisin lähtötason molemmin puolin (kuva 17).



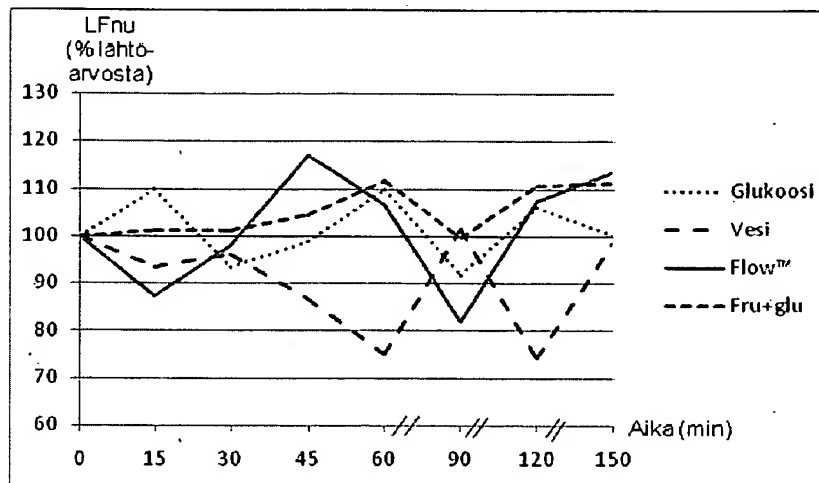
Kuva 17. HFnu-arvot tutkimusjuomittain ja tutkimushenkilöittäin esitettynä.

Glukoosiliuoksen ja FlowTM-juoman jälkeen pienin vaihtelu LF-taajuusalueella erosi lähtöarvostaan (taulukko 11). Veden juonnin jälkeinen suurin ja Fru+glu-juoman jälkeen suurin ja pienin arvo erosi lähtöarvostaan. Ainoastaan Fru+glu-juoman aiheuttama ΔAUC -arvo oli selkeästi positiivinen.

Vertailtaessa juomia keskenään oli veden ja FlowTM-juoman suurin LF-taajuusalueen vaihtelu suurempaa kuin glukoosiliuoksen vastaava. Glukoosiliuoksen ja myös FlowTM-juoman aiheuttama LF-taajuusalueen vaihtelun ΔAUC -arvo oli suuntaa-antavasti pienempi kuin veden ja Fru+glu-juoman (taulukko 11).

Normalisoitu vaihtelu LF-taajuusalueella erosi aikapisteiden välillä glukoosiliuoksella ($p = 0,02$) ja vedellä ($p = 0,05$), kun taas FlowTM-juomalla eroavaisuus jäi suuntaa-antavaksi ($p = 0,06$). Sekä pienimmät että suurimmat LFnu-arvot erosivat lähtöarvoistaan pareittain testattuina glukoosiliuoksen, FlowTM- ja Fru+glu-juomien jälkeen (taulukko 11). Vaikka juomien vaikutukset lähtötasoon nähden olivat merkitseviä, LFnu-arvojen muutosten suunnat jäivät epäselviksi. Kaikkien juomien aiheuttamat ΔAUC -arvot vaihtelivat positiivisesta negatiiviseen. Muuttujan

arvot siis vaihtelivat mittauspisteissä lähtötilanteen molemmiin puolin mittausajan kuluessa (kuva 18). Juomien välisissä vertailuissa eivät eronneet mitkään LFnu-muuttujista lasketut arvot (taulukko 11).



Kuva 18. Normalisoitu sykevaihtelu LF-taajuudella eli muuttuja LFnu prosentteina lähtöarvoista tutkimusjuomittain. Kuvassa mediaanit, kvartiilit on jätetty kuvan selvyden vuoksi pois.

Taajuustarkastelun LF:HF-suhde erosi aikapisteiden välillä glukoosiliuoksen ($p = 0,015$) ja Flow™-juoman ($p = 0,05$) sekä suuntaa-antavasti Fru+glu-juoman ($p = 0,06$) nauttimisen jälkeen juomien sisäisissä vertailuissa. Glukoosiliuoksen ja Fru+glu-juoman jälkeen LF:HF-suhteen suurimmat ja pienimmät arvot ja veden sekä Flow™-juoman jälkeen ainoastaan pienimmät arvot erosivat merkitsevästi lähtöarvoistaan (taulukko 11). Juomien välisissä vertailuissa muuttujissa ei ollut eroja.

Taulukko 11. Tutkimusjuomien aiheuttamat sykevaihtelun taajuusmuuttujien LF-taajuusalueen vaihteluiden ja LF:HF-suhteen lähtöarvot sekä seuranta-ajan suurimmat ja pienimmät arvot sekä vastekäyrän ja lähtötason väliin jäävät pinta-alat tutkimusjuomittain [mediaani (kvartiili 1; kvartiili 3)].

	Glukoosi	Vesi	Flow™	Fru+glu	Juomien vertailu ¹
Sykevaihtelu LF-taajuusalueella (ms ² ; ΔAUC ² ms ² • min), n = 6					
Lähtö-arvo	2307 (1805; 3500)	1694 (710; 3952)	2170 (1553; 6766)	2099 (426; 4277)	0,706
Suurin arvo	3744 ^b (2546; 5312)	4999 ^a (3300; 5931)	5785 ^a (5197; 6343)	5290 ^{a,ab} (2841; 6975)	0,029
Pienin arvo	1121 ^a (792; 1625)	1396 (1028; 1861)	1449 ^a (535; 1624)	1634 ^a (837; 2159)	0,978
ΔAUC	-79488 (-125975; 76393)	153099 (-116820; 325181)	63733 (-324739; 151712)	203355 (119071; 317970)	0,086
Normalisoitu sykevaihtelu LF-taajuusalueella, LFnu (ms ² ; ΔAUC ms ² • min), n = 6					
Lähtö-arvo	53,9 (39,5; 68,3)	64,1 (40,0; 75,9)	52,3 (42,5; 67,4)	53,6 (47,3; 68,4)	0,572
Suurin arvo	61,1 ^a (50,8; 76,4)	71,3 (58,8; 80,5)	62,4 ^a (54,5; 79,6)	70,1 ^a (54,8; 80,2)	0,133
Pienin arvo	43,4 ^a (33,1; 58,7)	43,5 (26,5; 58,3)	29,6 ^a (26,9; 44,4)	39,9 ^a (31,4; 64,3)	0,172
ΔAUC	-101 (-984; 233)	-1067 (-2156; 1396)	-79 (-1397; 1106)	869 (267; 1436)	0,187
LF:HF-suhde (ei yksikköä; ΔAUC min)					
Lähtö-arvo	1,26 (0,66; 2,28)	1,94 (0,68; 3,50)	1,12 (0,78; 2,65)	1,17 (0,94; 2,20)	0,572
Suurin arvo	1,79 ^a (1,03; 3,46)	2,81 (1,50; 4,47)	1,77 (1,20; 4,84)	2,77 ^a (1,22; 4,17)	0,060
Pienin arvo	0,81 ^a (0,49; 1,57)	0,79 ^a (0,36; 1,66)	0,42 ^a (0,37; 1,12)	0,72 ^a (0,46; 1,85)	0,172
ΔAUC	-0,27 (-49,70; 20,48)	-45,15 (-134,53; 211,94)	-1,56 (-59,14; 70,94)	57,27 (34,15; 122,73)	0,187

¹ Juomien välisen vertailun p-arvo. Vertailu tehtiin Friedmanin testillä. Samalla rivillä toisistaan suuntaa-antavasti eroavat arvot on merkitty eri yläviitekirjaimin (Wilcoxonin testi 0,007 < p < 0,05).

² ΔAUC = vastekuvaajan ja lähtötason väliin jäävä pinta-ala (engl. area under the curve, AUC).

^a Eroaa ko. juoman lähtötilanteen arvosta (Wilcoxonin testi p < 0,05).

6 Tulosten tarkastelu

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli testata ja kehittää tutkimusmalli, jonka avulla voidaan tutkia aterian aiheuttamia muutoksia veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin sekä sydämen autonomisen hermoston säätelyyn sykevälivaihtelua sekä syke- ja verenpainemuutoksia analysoimalla. Lisäksi tavoitteena oli selvittää mahdollisia eroja mitatuissa fysiologisissa vasteissa veden ja erilaisten hiilihydraattipitoisten juomien välillä. Tutkimusmallin avulla todettiin tutkimusjuomien aiheuttamia vasteita veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksissa, sydämen sykkeessä sekä sykevaihtelussa. Sykevaihtelumuttujen suuren hajonnan vuoksi osa vasteista ja juomien välisistä eroista jäivät heikoiksi. Hajonta oli pienempää, mikäli tutkittavat noudattivat valmistautumisohjeita. Tutkimuksen verenpainemittauksien tulokset erosivat manuaalisen verenpainemittauksen tuloksista.

- Sydämen syke ei muuttunut 75 gramman glukoosiannoksen jälkeen. Glukoosiannos ei vaikuttanut kokonaissykevaihteluun, mutta RMSSD-arvon pieneminen ja HF-taajuusalueelle sijoittuvan sykevaihtelun väheneminen viittasivat siihen, että glukoosiliuos saattoi vähentää sydämen parasympaattisen hermoston säätelyä.
- Tutkimuksessa bioaktiiviset aineet eivät vaikuttaneet juomien aiheuttamiin muutoksiin veren glukoosi- tai insuliinipitoisuuksissa. Bioaktiivisia aineita sisältävä Flow™-juoma ja suuntaa-antavasti Fru+glu-juoma laskivat sykettä. Kokonaissykevaihteluun Flow™-juoma ei vaikuttanut, kun taas Fru+glu-juoma suurensi kokonaissykevaihtelua.
- Tutkimuksen hiilihydraattipitoisten juomien aiheuttamilla muutoksilla sykkeeseen tai sykevaihtelun SDNN- ja RMSSD-muuttujiin ei ollut selkeää yhteyttä veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksien muutoksiin.
- Lisäksi tutkimuksessa havaittiin veden juonnin aiheuttamia fysiologisia vasteita. Veden juominen laski sykettä. Kokonaissykevaihtelu lisääntyi veden juomisen jälkeen. Sykevaihtelumuttujen, kuten RMSSD:n ja pNN50:n suureneminen sekä HF-taajuusalueen sykevaihtelun lisääntyminen viittasivat veden juonnin lisäävän sydämen parasympaattista säätelyä. Veden juonti ei muuttanut veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksia.

7 Pohdinta

7.1 Tulosten arviointia ja aikaisemmat tutkimustulokset

7.1.1 Mittaustulosten hajonta ja tutkimukseen valmistautuminen

Hajonnat mittaustuloksissa tekivät päättelyn juomien aiheuttamista vasteista haasteelliseksi. Tutkimusjuomittain tarkasteltuna muuttujan suurin sekä pienin arvo saattoivat erota lähtöarvoistaan. Lisäksi ΔAUC -arvojen ensimmäinen kvartiili saattoi olla negatiivinen ja kolmas kvartiili positiivinen, joten joissakin tapauksissa selvää käsitystä juoman aiheuttamasta muuttujan ΔAUC -arvosta oli hankala saada.

Valmistautumisohjeet sykevaihdelun mittaukseen ovat erittäin tärkeitä (Parati ja Di Rienzo 2003). Niiden merkitys tuli esille myös tässä tutkimuksessa, koska lähtöarvoista lasketut variaatiokertoimet olivat pienempiä niillä mittauserroilla, jolloin tutkittavat olivat noudattaneet annettuja valmistautumisohjeita. Tutkitut fysiologiset vasteet ovat kuitenkin yksilöllisiä, joten huolellinenkaan valmistautuminen ei täysin poista mittaustulosten hajontaa. Sykevaihdelun toistettavuudesta on aiemmin saatu samantyyppisiä tuloksia ja samaa kokoluokkaa olevia variaatiokertoimia (Tarkiainen ym. 2005, Zollei ym. 2007). Tässä tutkimuksessa muuttujien suuri hajonta vaikeutti juomien vertailua ja vaikutti osaltaan siihen, että veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksia lukuun ottamatta juomien välisissä vertailuissa vain harvassa muuttujassa oli merkitseviä eroja.

7.1.2 Juomien vaikutukset veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin

Glukoosiliuos sisälsi juomista eniten hiilihydraatteja, ja se nostikin juomista voimakkaimmin veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksia. Flow™- ja Fru+glu-juomien glukoosi- ja insuliinivasteet olivat keskenään samanlaisia. Vesi oli tutkimuksessa kontrollina juomisen aiheuttamille fysiologisille vasteille eikä se vaikuttanut veren glukoosi- tai insuliinipitoisuuksiin.

7.1.3 Glukoosiannos ja sykevaihtelu

Tässä tutkimuksessa 75 g glukoosiannos ei muuttanut sykevaihdelun SDNN-arvoja. Sen sijaan se luultavasti pienensi sydämen parasympaattista säätelyä kuvaavaa RMSSD-arvoa. Sykevaihdelun aikamuuttujia ei ravinnon välittömiä vaikutuksia tutkineissa raporteissa ole mainittu yhtä lukuun ottamatta. Siinä glukoosiannoksen vaikutuksia lähtötilanteeseen verrattuna ei todettu SDNN- eikä RMSSD-arvoissa (Weissman ym. 2006). Aikaisemmissa tutkimuksissa ei raportoida glukoosin vaikutuksista taajuustarkastelun kokonaisvaihteluun. Tämän tutkimuksen mukaan

glukoosiliuksella ei ollut selkeää vaikutusta tähän muuttuun, koska vaikka suurin arvo erosi lähtöarvostaan, ΔAUC -arvo oli melko pieni.

Sykevaihtelun taajuustarkastelusta saatiin viitteitä siitä, että glukoosiliuos vähentäisi sykevaihtelun jakautumista HF-taajuusalueelle. Glukoosiliuos vähensi sykevaihtelua myös LF-taajuusalueella ainakin suurimmalla osalla tutkittavista, mutta vaikutus LF:HF-suhteeseen jäi epäselväksi. Viidessä aiemmassa tutkimuksessa LF:HF-suhde suureni lähtötilanteeseen nähden joko glukoosiannoksen tai hiilihydraattipitoisen seka-aterian jälkeen (Paolisso ym. 1997, Lu ym. 1999, Paolisso ym. 2000, Tentolouris ym. 2003, Weissman ym. 2006). Näistä kahdessa tutkimuksessa ei erikseen raportoitu sykevaihtelun muutoksia LF- ja HF-taajuusalueilla (Paolisso ym. 1997, Paolisso ym. 2000) ja kolmessa HF-taajuusalueen vaihtelu väheni (Lu ym. 1999, Tentolouris ym. 2003, Weissman ym. 2006). Sen sijaan näissä tutkimuksissa sykevaihtelu LF-taajuusalueella lisääntyi yhdessä (Tentolouris ym. 2003) ja toisessa se puolestaan väheni (Weissman ym. 2006). Yhdessä tutkimuksessa ei sykevaihtelu muuttunut LF-taajuusalueella seka-aterian jälkeen (Lu ym. 1999).

Tämän tutkimuksen tulokset viittasivat glukoosiliuksen mahdollisesti vähentävän sydämen parasympaattista säätelyä. Samansuuntaisia tuloksia on saatu myös aikaisemmista tutkimuksista, vaikka yksittäisten muuttujien tulokset vaihtelevat tutkimusten kesken. Koska sydämen sympaattista säätelyä ei pystytä sykevaihtelulla suoraan arvioimaan, tulokset tukevat osaltaan myös aikaisempia havaintoja ravinnon hiilihydraattien aiheuttamasta välittömästä sympaattisen aktivaation lisääntymisestä lihaksen mikroneurografia- ja veren noradrenaliinimittauksissa (Erling ym. 1991, Vollenweider ym. 1993, Baron 1994, Scherrer ja Sartori 1997, Borne ym. 1999).

7.1.4 Bioaktiiviset aineet ja sykevaihtelu

Bioaktiivisten aineiden vaikutuksia selvitettiin niitä sisältävän FlowTM-juoman sekä ilman bioaktiivisia aineita valmistetun Fru+glu-juoman aiheuttamien vasteiden avulla. Juomien vaikutukset veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin olivat samantyyppisiä. FlowTM-juoma sekä suuntaa-antavasti Fru+glu-juoma laskivat sykettä. FlowTM-juoman mahdollinen vaikutus kokonaissykevaihteluun oli hyvin pieni, mutta Fru+glu-juoma näytti suurentavan SDNN-arvoa. Fru+glu-juoman osalta SDNN-arvo suureni mittauksen loppua kohden. Kyseessä saattoi olla bioaktiivisista aineista johtuva juomien välinen ero niiden aiheuttamissa vasteissa. Kuitenkaan pienestä otoskoosta johtuvaa virheen mahdollisuutta ei voida poissulkea.

FlowTM-juoman jälkeinen sykevaihtelun pNN50-arvon suureneminen ja sykevaihtelun lisääntyminen HF-taajuusalueella oli vähäistä. Juoman vaikutukset RMSSD-arvoihin sekä

sykevaihtelun sijoittumiseen LF-taajuusalueelle jäivät epäselviksi. Fru+glu-juoman juominen saattoi hiukan suurentaa RMSSD- ja pNN50-arvoja sekä lisätä sykevaihtelua HF-taajuusalueella. Myös LF-taajuusalueen vaihtelu saattoi lisääntyä. LF:HF-suhde pieneni, joten vaihtelu HF-taajuusalueella lisääntyi LF-taajuusalueella runsaammin. FlowTM-ja Fru+glu-juomien välillä oli eroa ainoastaan kokonaissykevaihtelun ja LF-taajuusalueen vaihtelun Δ AUC-arvoissa. FlowTM-juoman vasteet jäivät tutkimuksessa suurelta osin epäselviksi. Toisaalta on myös mahdollista, ettei juomalla ole vaikutuksia suurimpaan osaan mitatuista muuttujista.

7.1.5 Veden juomisen vaikutukset sykevaihteluun

Tässä tutkimuksessa veden juominen suurensi kokonaissykevaihtelua aikataarkastelussa sekä suuntaa-antavasti taajuustarkastelussa, suurensi RMSSD- ja pNN50-arvoja sekä lisäsi sykevaihtelua HF-taajuusalueella. Myös sykevaihtelu LF-taajuusalueella lisääntyi, kuitenkin HF-taajuusalueen vaihtelua vähemmän, koska veden juominen pienensi suurimmalla osalla tutkittavista LF:HF-suhdetta. HF-taajuusalueen vaihtelun osalta samansuuntaisia tuloksia on saatu kahdessa tutkimuksessa (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005). Toisessa raportoitiin nyt saatujen tulosten tavoin RMSSD-arvon suurenemista (Routledge 2002). Sykevaihtelu LF-taajuusalueella sen sijaan ei muuttunut näissä kummassakaan tutkimuksessa. Aikaisempien tutkimusten johtopäätökset veden juonnin sydämen parasympaattista säätelyä lisäävistä vaikutuksista siis tukevat tässä tutkimuksessa saatuja tuloksia.

7.1.6 Sykevaihtelumuutosten yhteys veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin

Syke-, sykevaihtelu- ja verenpainemuutosten yhteyttä veren glukoosipitoisuuden muutoksiin tutkittiin glukoosiliuoksen ja veden juomisen aiheuttamien vasteiden avulla. Glukoosiliuoksen ja veden juonnin välillä oli eroja vain kokonaissykevaihtelun ja LF-taajuusalueen vaihtelun Δ AUC-arvoissa. Kuitenkin juomat aiheuttivat erityyppiset vasteet, koska veden juominen lisäsi ja glukoosiliuos suuntaa-antavasti vähensi sydämen parasympaattista säätelyä.

SDNN- ja RMSSD-muuttujien osalta asiaa tarkasteltiin myös vertaamalla niiden arvoja veren pienimmän ja suurimman glukoosipitoisuuden ajanhetkillä. Millään juomalla ei ollut eroja näiden arvojen välillä. Tutkimushenkilöittäin ja tutkimusjuomittain esitetyissä kuvaajissa, joissa ovat SDNN-arvot plasman glukoosipitoisuuden ja toisissa seerumin insuliinipitoisuuden kanssa, ei näkynyt selkeitä yhteyksiä näiden muuttujien välillä.

Tämän tutkimuksen tulosten perusteella nesteen juominen vaikutti sykevaihtelun SDNN- ja RMSSD- muuttujiin muilla kuin veren glukoosipitoisuuteen liittyvillä mekanismeilla.

Glukoosiliuoksen vaikutukset näihin muuttujiin olivat kuitenkin hajonnasta johtuen heikot, joten mahdollista suuren veren glukoosipitoisuuden vaikutusta ei voida sulkea pois. Insuliinimääritykset onnistuivat vain osasta näytteitä, joten tässä tutkimuksessa niiden yhteyttä muihin muuttujiin ei selvinnyt.

7.1.7 Hiilihydraattimäärän vaikutus sykevaihteluun

Fru+glu-juomassa oli selvästi glukoosiliuosta pienempi hiilihydraattimäärä. Juomien välillä oli eroa niiden aiheuttamissa vasteissa vain ΔAUC -arvoissa Fru+glu-juoman aiheuttaessa suuremman sykevaihtelun jakautumisen LF-taajuusalueelle. Kuitenkin näyttäisi siltä, että Fru+glu-juoman vaikutukset muistuttavat enemmän veden juonnin sydämen parasympaattista säätelyä vahvistavia vaikutuksia kuin glukoosiliuoksen päinvastaisia vaikutuksia.

Sydämen autonomisen hermoston säätelyyn vaikuttavan hiilihydraattiannoksen määrää ei tarkkaan tunneta. Tutkimuksessa noin 13 gramman hiilihydraattiannos ei riittänyt aikaansaamaan samoja muutoksia sykkeessä ja sykevaihtelussa kuin 75 gramman glukoosiannos, vaan sen aiheuttamat muutokset muistuttivat enemmän veden juonnin vastaavia. On arveltu, että sydämen sykettä muuttaisi vasta yli 450 kcal energiaa sisältävä ateria (Lu ym. 1999). Sykevaihtelu on huomattavasti herkempi ärsykeille, mutta luultavasti Fru+glu-juoman noin 52 kcal oli liian vähäinen energiamäärä aiheuttamaan muutoksia sykevaihteluun. Juomien vaikutusten eroja saattavat selittää erilaisen hiilihydraattimäärän lisäksi juomien erilainen pH ja mahdollisesti myös osmolaarisuus. Lisäksi fruktoosilla ja glukoosilla saattaa olla erilaisia vaikutuksia sykevaihteluun.

7.1.8 Juomien vaikutus sydämen sykkeeseen ja verenpaineeseen

Tässä tutkimuksessa ei havaittu sykkeen nousua minkään tutkimusjuoman nauttimisen jälkeen. Glukoosiannoksen ja hiilihydraattipitoisen aterian on todettu lähtötilanteeseen nähden joko nostavan sykettä (Lu ym. 1999, Paolisso ym. 1997, Paolisso ym. 2000) tai niillä ei ole ollut vaikutusta sykkeeseen (Tentolouris 2003, Weissman 2006). Tässä tutkimuksessa syke laski veden juonnin seurauksena. Tätä löydöstä tukevat aikaisemmat tutkimustulokset (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005). Myös FlowTM-juoma ja suuntaa-antavasti Fru+glu-juoma laskivat sykettä. Tämä saattaa johtua juomien vähäisestä energiapitoisuudesta. Lisäksi juomien erilainen pH ja osmolaarisuus glukoosiliuokseen verrattuna saattoivat vaikuttaa siihen, että FlowTM-juoma ja suuntaa-antavasti Fru+glu-juoma laskivat sykettä, mutta glukoosiliuos ei vaikuttanut sykkeeseen.

Jatkuvatoimisen verenpainemittauksen perusteella kaikilla tutkittavilla systolinen ja seitsemällä diastolinen verenpaine oli lähtöarvoaan suurempi 150 minuutin aikapisteessä. Systolisen

verenpaineen suurimmat arvot erosivat kaikilla juomilla lähtöarvoistaan ja diastolisen suurimmat arvot glukoosiliuoksen sekä Flow™-ja Fru+glu-juomien osalta. Systolisen sekä diastolisen verenpaineiden Δ AUC-arvot kaikkien juomien osalta olivat melko suuria.

Barorefleksi säätelee sydämen toimintaa tasaten verenpainetta erilaisissa tilanteissa, joissa verenpaine nousee tai laskee. Barorefleksin toiminta on kuitenkin nopeaa ja sitä yleensä edeltää muutoksia sykkeessä tai verenpaineessa. Tämän tutkimuksen tulosten mukaan verenpaineen muuttuminen oli kuitenkin hidasta ja jatkuvaa, eikä siihen liittynyt selkeitä sykemuutoksia. Tutkittavien hermostuminen mittaustilanteen kuluessa olisi verenpaineen lisäksi näkynyt sykkeessä ja sykevaihtelussa.

Manuaalisesti tehdyt verenpainemittaukset erosivat jatkuvatoimisen verenpainemittauksen tuloksista. Manuaalisissa mittauksissa ei näkynyt millään juomalla vaikutuksia systolisessa ja vain Fru+glu-juomalla diastolisessa verenpaineessa. Verenpainemittaustekniikoiden välisten tuloserojen taustalla saattaa olla mittaustekninen ongelma. Tutkimuksen perusteella ei voi arvioida kumpi tekniikoista on luotettavampi. Mittaustekniikoiden välinen ero saattaa olla myös fysiologinen, koska jatkuvatoimista verenpainemittaustekniikkaa on käytetty lukuisissa tutkimuksissa.

Tässä tutkimuksessa juomien vaikutukset verenpaineeseen jäivät epäselviksi. Aikaisemmissa tutkimuksissa verenpaineessa ei ole todettu muutoksia lähtötilanteeseen veden juonnin (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005) eikä seka-aterian tai glukoosiliuoksen jälkeen (Paolisso ym. 1997, Paolisso ym. 2000, Tentolouris ym. 2003). Luultavasti terve elimistö siis pystyy tasapainottamaan ravinnon ja nesteen nauttimisen aiheuttamia verenkierröllisiä muutoksia, jolloin mitattavat syke- ja verenpaine-arvot eivät yleensä muutu.

7.2 Tutkimuksen arviointia

7.2.1 Tutkimusjuomat

Veden juonnilla oli muista juomista poikkeavia itsenäisiä vaikutuksia sykkeeseen ja sykevaihteluun. Luultavasti vesi vaikutti eri mekanismeilla sydämen ja verenkiertoelimistön säätelyyn kuin muut juomat. Tutkimusasetelmasta puuttui kontrollimittaukselta ilman juomaa. Tällainen kontrollikerta olisi mahdollistanut luotettavamman erottelun juomien aiheuttamien ja muista sekoista johtuvien muutosten välille.

Flow™-juoman sisältämien bioaktiivisten aineiden vaikutuksia tutkittiin Flow™- ja Fru+glu-juomien aiheuttamien vasteiden avulla. Bioaktiivisia aineita oli kuitenkin Flow™-juomassa hyvin

pieniä pitoisuuksia ja aineita oli useita. Kuten kirjallisuuskatsauksessa ilmeni guaranan sisältämä kofeiini on vain yksi mahdollisista sydämeen ja verenkiertoelimistöön vaikuttavista bioaktiivisista aineista. Juomat sisälsivät myös hiilihydraatteja, jotka saattavat vaikuttaa bioaktiivisten aineiden imeytymiseen, aineenvaihduntaan tai aineiden vaikutuksiin.

FlowTM- ja Fru+glu-juoma sisälsivät säilöntäaineita, joilla saattoi olla vaikutusta hiilihydraattien imeytymiseen ja toisaalta autonomisen hermoston vasteisiin. Happamuus saattoi vaikuttaa siihen, kuinka miellyttävän makuisiksi juomat koettiin, ja tätä kautta myös autonomiseen hermostoon. Tutkittavat saattoivat kokea myös glukoosiliuoksen suuren sokeripitoisuuden epämiellyttävänä makuna. Nesteen sisältämien partikkelien määrän eli juoman osmolaarisuuden on arveltu olevan yksi sydämen ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston säätelyyn vaikuttavista tekijöistä (Routledge ym. 2002, Brown ym. 2005). Tässä tutkimuksessa ei kuitenkaan selvitetty tutkimusjuomien osmolaarisuutta. Juoman lämpötila vaikuttaa imeytymisnopeuteen sekä makukokemukseen ja mahdollisesti myös autonomiseen hermostoon. Kaikkien tutkimusjuomien lämpötila oli nautittaessa noin 22°C.

Tutkimusjuomissa oli glukoosiliuosta lukuunottamatta hyvin pieni energiasisältö. Tämä saattoi selittää FlowTM- ja Fru+glu-juomien vähäisiä vaikutuksia. Kirjallisuuden ja esikokeiden perusteella todettiin suurien fruktoosimäärien ja -pitoisuuksien aiheuttavan usein vatsaoireita. Siksi juomia päätettiin käyttää FlowTM-juoman kaupallisen laimennoksen mukaisesti (Skoog ja Bharucha 2004). Esikokeita tehtiin kaksinkertaisella FlowTM-juomapitoisuudella sekä 50 gramman hiilihydraattimäärällä 300 ml nestetilavuudessa. Glukoosiliuoksen pitoisuutena päädyttiin käyttämään kliinisissä glukoosirasituskokeissa ja monissa vastaavissa tutkimuksissa käytettyä määrää.

Tutkimus oli satunnaistettu eli tutkimusjuomien järjestys arvottiin. Tutkittavat eivät tiedäneet kulloisenkin juoman sisältöä eivätkä nähneet tai haistaneet juomaa, mutta kaikki maistoivat veden ja tunnistivat mausta vahvan glukoosiliuoksen sokeriksi. Kaikkien juomien samanlainen maku olisi parantanut sokkoutusta.

7.2.2 Tutkimushenkilöt

Poissulkukriteerien avulla pyrittiin siihen ettei tutkittavien terveydessä tai elintavoissa olisi seikkoja, jotka vaikuttaisivat sekoittavasti fysiologisiin mittaustuloksiin. Tutkittavien taustatiedot kartoitettiin monipuolisesti seulontatutkimuskäynnillä. Tutkimushenkilöiksi valittiin vain miehiä. Kuitenkin osassa tutkittavien ominaisuuksista oli vaihtelua. Ikä ja BMI vaihtelivat, samoin veren

rasva-arvot, joista osa oli yli viitearvojen. Tutkittavien fyysisen kunnon tasot vaihtelivat kesinkertaisesta erinomaiseen. Tutkimusotoksen samankaltaisuus ainakin näiden ominaisuuksien osalta olisi saattanut vähentää mitattujen muuttujien vaihtelua. Toisaalta se olisi edelleen vähentänyt tutkimustulosten yleistettävyyttä. Tutkimusasetelman vahvuutena oli se, että jokainen tutkittava joi kaikkia tutkimusjuomia ja jokaisen oma lähtötilanne toimi kontrollitilanteena ilman juoman mahdollisia vaikutuksia.

7.2.3 Tutkimukseen valmistautuminen ja mittaustilanne

Sykevaihteluun vaikuttavat lukuisat seikat lyhyellä sekä pitkällä aikavälillä, kuten kirjallisuuskatsauksessa mainittiin. Tutkimukseen annettiin valmistautumisohjeet sekä suullisesti että kirjallisesti. Mahdollisista epäselvyyksistä kehoitettiin kysymään tutkijalta suullisesti, puhelimitse tai sähköpostilla. Tutkimusta edeltävän päivän fyysistä rasitusta sekä alkoholin ja ravinnon käyttöä pyrittiin kontrolloimaan ohjeistuksella ja päiväkirjojen avulla. Vuorokausi saattoi kuitenkin olla liian lyhyt aika näiden tekijöiden vaikutusten poistamiseksi. Ruoka- ja liikuntapäiväkirjojen analyyseistä ilmeni, etteivät kaikki tutkittavat noudattaneet annettua ohjetta hiilihydraattien vähimmäissaannista tutkimusta edeltävän päivän aikana. Liikunnan osalta raportointi oli puutteellista. Resurssipulan vuoksi päiväkirjoja ei ehditty tarkastaa välittömästi, jolloin olisi voinut korjata niiden täytössä ilmenneitä puutteita.

Valmistautumisohjeissa tutkittavia kehoitettiin nukkumaan tutkimusta edeltävänä yönä riittävästi. Tämä kontrolloitiin ainoastaan kysymällä. Kolmen tutkittavan kohdalla vuorotyöhön liittyvä epäsäännöllinen vuorokausirytmä saattoi lisätä väsymystä. Sykevaihteluun vaikuttavia henkisiä tekijöitä, kuten väsymystä ja stressiä ei tutkimuksessa ollut mahdollista vakioida.

Tutkimuskerralla otetuista lähtötilanteen verinäytteistä analysoiduista plasman glukoosipitoisuuksista päätellen kyseessä olivat paastonäytteet, joten tutkittavat olivat noudattaneet ohjetta 12 tunnin paastosta. Valmistautumisohjeissa kehoitettiin välttämään tutkimusaamuna ylimääräistä liikuntaa ja kiirettä. Mittausten lähtötilanteen sykemittauksista päätellen tutkittavat olivat rauhallisia.

Tutkimuspäivän kulku ja mittaustilanteen eteneminen pyrittiin vakioimaan kaikille mittauskerroille samanlaisiksi. Kunkin tutkittavan tutkimuskerrat olivat noin viikon välein, jotta valmistautuminen olisi mahdollisimman samanlaista eikä edellinen kerta vaikuttaisi siihen. Mittaus tehtiin aina samaan aikaan aamulla aloittaen. Tutkimuksen kulun oppiminen mittauskertojen edetessä eli tieto ja kokemus siitä, mitä tutkimuskerralla tapahtuu, saattoivat vaikuttaa tutkittaviin yksilöistä ja

kokemuksista riippuen joko rauhoittavasti tai hermostuttavasti. Tämän vaikutus tutkimustuloksiin pyrittiin estämään satunnaistamalla tutkimusjuomien järjestys.

Laskimokanyylin laittaminen verinäytteenottoa varten koettiin epämiellyttäväksi ja se saattoi aiheuttaa pientä kipua. Tasaantumisajalla pyrittiin saavuttamaan elimistöön tasainen lepotilanne ennen fysiologisten signaalien rekisteröintien aloittamista. Tämä vaihe saattoi olla liian lyhyt, etenkin tutkittavalla, joka pyörtyi kanyylin laitettaessa. Tutkimus tehtiin mahdollisimman häiriöttömässä, rauhallisessa ja lämpimässä huoneessa äänikirjaa kuunnellen. Lisäksi tutkittavat saivat halutessaan peiton päälle. Torkahtaminen mittauksen aikana tai tutkimustilanteen kokeminen jännittäväksi, ahdistavaksi tai tylsäksi saattoivat vaikuttaa mittauksituloksiin. Tutkimusta edeltävä 12 tunnin paasto sekä kolmen juoman kohdalla niiden vähäinen energiasisältö saattoivat aiheuttaa alhaista veren glukoosipitoisuutta ja heikotusta. Virtsamistarve aiheuttaa epä mukavuutta ja siksi tutkittavat saivat tarvittaessa virtsata tiettyinä ajanhetkinä. Kuitenkaan kaikki tutkittavat eivät virtsanneet, joten tilanne ei ollut tältä osin täysin vakioitu.

7.2.4 Verinäytteenotto

Punasolujen hajoaminen eli hemolyysi verinäytteissä aiheuttaa solunsisäisten insuliinia hajottavien entsyymien vapautumista ja näytteen insuliinipitoisuuden vähenemistä (HUSLAB 2007).

Verinäytteenotossa vakuumitekniikkaa aiheuttaa helposti näytteisiin hemolyysiä. Avotekniikka on huomattavasti työläämpi suorittaa, mutta sen avulla tutkimuksen insuliinimääritykset olisivat saattaneet onnistua useammasta näytteestä. Veren insuliinipitoisuuden muutokset välittävät ravinnon hiilihydraattien vaikutuksia elimistössä, joten seerumin insuliinipitoisuusmuutosten seuraaminen kaikilta tutkittavilta olisi mahdollistanut paremman autonomisen hermoston toiminnan ja ravinnon yhteyksien arvioimisen.

7.2.5 Laitteet ja analyysit

Plasman glukoosi- ja seerumin insuliinimääritysten luotettavuus oli hyvin tutkittu ja analyysit olivat korkealaatuisia. Opinnäytetyöntekijä opetteli käyttämään fysiologisia mittalaitteita ja analyysiohjelmia sekä itsekseen että laitteiden edustajien järjestämässä koulutuksessa sekä ohjaajiensa ja tutkimusyhteistyöryhmien neuvojen perusteella. Laitteiden käyttöä harjoiteltiin tekemällä mittauksia tutkimusryhmän muille jäsenille. Laitteet ja analyysiohjelmat olivat koko tutkimusryhmälle uusia, joten niistä ei ollut aikaisempaa käyttökokemusta.

Mittauksien käsittely oli haasteellista, koska niistä laskettiin useita erilaisia summamuuttujia. Tuloksia siirrettiin useaan kertaan tietokoneohjelmasta toiseen, joka lisäsi virheen mahdollisuutta.

Mitattujen muuttujien tilastollinen tarkastelu mediaanien perusteella peitti fysiologisten vasteiden yksilöllisyyttä.

7.2.6 Rinnakkaismenetelmät ja toistomittaukset

Sykevaihtelua rekisteröitiin EKG:n lisäksi tarkoituksenmukaisella sykemittarilla, mutta tulosten analysoiminen ei sisälly tähän opinnäytetyöhön. Verenpaine mitattiin tietyissä aikapisteissä perinteisellä sydänääniin perustuvalla manuaalisella tekniikalla. Vaikka tekniikka ei ole täysin vertailtavissa lyönti lyönniltä mittauksiin, verenpaineessa ei manuaalisissa mittauksissa ollut samaa jatkuvaa ajan kuluessa nousevaa suuntaa. Tämä viittaa siihen, että lyönti lyönniltä mittaustekniikassa on ongelmia usean tunnin kestävässä mittauksissa tai taustalla on ainakin tässä yhteydessä tuntematon fysiologinen ilmiö. Sormimansetin irrottaminen tietyin aikavälein saattaisi parantaa verenkiertoa sormessa ja ehkä tarkentaa verenpaineen mittaamista. Toisaalta manuaaliseen tekniikkaan vaikuttaa sen suorittajaan liittyviä subjektiivisia seikkoja, kuten kyky kuulla sydämen lyönti juuri oikealla hetkellä.

Kuitenkin lyönti lyönniltä verenpainemittaustekniikka mahdollistaa tämän opinnäytetyön ulkopuolelle jäävät monipuoliset verenpainemuutosten analyysit sekä yhdessä sykevaihtelun kanssa barorefleksin tutkimisen. Nämä analyysit antavat lisätietoa sydämeen kohdistuvasta autonomisen hermoston säätelystä ja tästä syystä lyönti lyönniltä verenpainemittaus on tärkeä osa tutkimusmallia.

Tämän tutkimuksen mittaustulosten luotettavuutta olisivat parantaneet toistomittaukset, jolloin sama tutkittava olisi juonut samaa tutkimusjuomaa useammalla mittauskerralla. Tämä olisi selvittänyt mittausten vaihtelun suuruutta mittauskerrasta toiseen ja toisaalta vahvistanut tuloksia kunkin juoman vaikutuksista. Tutkimuksessa tehty mittausten lähtötilanteiden tuloksista lasketut variaatiokertoimet kuvaavat muuttujien arvojen päivittäistä vaihtelua. Muista kuin biologisista syistä johtuvan vaihtelun suuruutta selvittäisi puolestaan lähtötilanteen mittauksen toistaminen toisesta viiden minuutin jaksosta. Mittausolosuhteet olisi silloin saatava äärimmäisen vakaiksi, jotta tutkittavaan ei kohdistuisi minkäänlaista ärsykettä tuona aikana. Sykevaihtelun mittaamisen toistaminen onkin huomattavasti haasteellisempaa kuin esimerkiksi verestä mitattavan biokemiallisen merkkiaineen. Lisäksi tulosten luotettavuutta olisivat lisänneet saman tai toisen tutkijan satunnaisessa järjestyksessä tekemät rinnakkaisanalyysit fysiologisten signaalien analyysistä.

7.3 Yleistettävyyys

Koska kyseessä oli pilottitutkimus, oli otoskoko melko pieni ja valikoitunut. Tutkituissa fysiologisissa mittauksissa oli suurta vaihtelua. Siksi juomien aiheuttamien muutosten luotettavaan havainnointiin tutkimuksen otos oli liian pieni, eikä kaikilta ominaisuuksiltaan riittävän yhteneväinen. Tutkimuspäivää edeltävää vuorokautta koskevat valmistautumisohjeet saattoivat rajoittaa tiettyjä elintapoja ja käyttäytymistä, joten tilanne ei välttämättä vastannut tutkittavan normaalia päivää. Tutkimusasetelma tähtäsi perustutkimuksen laboratoriomenetelmän testaamiseen ja kehittämiseen, eivätkä tämän tutkimuksen tulokset ole tarkoitettu yleistettäväksi ihmisten arkielämään.

7.4 Tulevat tutkimukset

Sydämeen kohdistuvalla autonomisen hermoston säätelyllä on todettu olevan yhteyttä sairauksiin. Toisaalta ravinnolla on vaikutuksia autonomisen hermoston toimintaan sydämessä. Kuitenkin näissä yhteyksissä ja vaikutuksissa on vielä paljon epäselvyyksiä. Tässä tutkimuksessa testatun tutkimusmallin kehittäminen toistettavaksi ja herkäksi menetelmäksi saattaa mahdollistaa joidenkin näiden epäselvyyksien tutkimisen. Tässä tutkimuksessa testatulla tutkimusmallilla todettiin aterian jälkeisiä vasteita mitatuissa fysiologisissa muuttujissa. Toisaalta tutkimusjuomien välisiä eroja niiden aiheuttamissa vasteissa ei tarkalleen saatu selville.

Tutkimusta edeltävän vuorokauden syketietojen ja jatkuvatoimisella glukosimittarilla veren glukosipitoisuuksien tallentaminen 24 tunnin rekisteröintinä antaisivat runsaasti tietoa tutkimushenkilöstä ja hänen valmistautumisestaan tutkimukseen. Toisaalta se saattaisi tuoda entistä enemmän haasteita aineiston käsittelyyn. Tutkimuspäivänä kontrolloitu aamuateria ja mittausten siirtäminen iltapäivälle saattaisivat vähentää paaston mahdollisia vaikutuksia. Kontrollikerta, jolloin mittaukset tehtäisiin ilman tutkimusjuomaa, selvittäisi mittaustilanteesta tai tutkimushenkilöstä johtuvia muutoksia analysoitavissa muuttujissa. Se voisi selvittää myös kuinka stressaavaksi tutkittavat kokevat mittaustilanteen.

Barorefleksiherkkyyden tai verenpainevaihtelun analysoimiseen ei ollut käytettävissä tarvittavia ohjelmistoja opinnäytetyön tekohetkellä. Verenpainevaihtelun ja barorefleksin analysoiminen saattaisi tuoda syventävää lisätietoa aterioiden ja ravintoaineiden välittömistä vaikutuksista sydämen autonomisen hermoston säätelyyn. Sykevaihtelua on mahdollista analysoida myös erilaisiin matemaattisiin teorioihin perustuvien menetelmin. Jokin muu analyysimentelmä saattaisi olla tässä tutkimuksessa käytettyä menetelmää sopivampi tutkittaessa ravinnon aiheuttamia pieniä muutoksia sydämen autonomisen hermoston säätelyssä.

Sydämen iskutilavuuden ja ääreisverenkierron virtausvastuksen määrittäminen, esimerkiksi epäsuorasti lyönti lyönniltä verenpainemittauksesta laskemalla, olisivat saattaneet selvittää aterian vaikutuksia ääreisverenkiertoon. Veren noradrenaliinipitoisuuksien mittaukset olisivat saattaneet antaa lisätietoa ravinnon vaikutuksista sympaattisen hermoston säätelyyn, mutta ne olisivat olleet kalliita. Muut perinteiset autonomisen hermoston tutkimusmenetelmät, kuten lihaksen mikroneurografia, eivät olisi sopineet sykevaihtelun ohella käytettäväksi. Tietoa ravintoaineiden välittömistä vaikutusmekanismeista sydämen autonomisen hermoston säätelyyn voisi olla mahdollista saada määrittämällä verinäytteistä tulehduksen ja oksidatiivisen stressin merkkiainepitoisuuksia.

FlowTM-juoma on golfin pelaajille suunnattu urheilujuoma. Golfin pelaaminen vaatii keskittymistä ja hyvää psyykkistä vireystilaa. Vielä ei tunneta psyykkisen tai fyysisen suorituskyvyn kannalta optimaalista vireystilaa, sydämen ja verenkiertoelimistön autonomisen hermoston säätelyä silloin tai miten nämä tarkalleen vaikuttavat toisiinsa. Kuitenkin autonominen hermosto liittyy vireystilan säätelyyn. Kognitiivista suorituskkyä voidaan mitata erilaisin testein. Toisaalta psykologiset testit levossa ja liikuntasuorituksen aikana vaikuttavat sydämen autonomisen hermoston säätelyyn (Kelsey ym. 2000). Yhtenä tulevana tutkimusaiheena voisikin olla erilaisten urheilujuomien vaikutukset sydämen autonomisen hermoston säätelyyn kognitiivisten testien aikana.

Myös terveyden kannalta on vielä epäselvää millaiset ravinnon mahdolliset vaikutukset olisivat edullisimpia. Siihen saattaa vaikuttaa toisaalta sydämen autonomisen hermoston säätelyn perustila, toisaalta tämän säätelyn herkkyys ulkoisille ärsykeille. Ravinnon vaikutus autonomiseen hermostoon on todennäköisesti tärkeämmässä asemassa tietyillä potilas- ja riskiryhmillä kuin terveillä.

8 Johtopäätökset

Tutkimuksen tarkoituksena oli testata ja kehittää tutkimusmalli, jonka avulla voidaan tutkia aterian vaikutuksia veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin sekä sydämen autonomisen hermoston säätelyyn sykevälivaihtelua sekä syke- ja verenpainemuutoksia analysoimalla. Tavoitteena oli myös selvittää mahdollisia eroja mitatuissa fysiologisissa vasteissa veden ja erilaisten hiilihydraattipitoisten juomien välillä. Tutkimusmallin avulla todettiin tutkimusjuomien aiheuttamia vasteita veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksissa, sydämen sykkeessä sekä sykevaihtelussa. Tutkimuksessa syke- ja sykevaihtelumuutokset eivät olleet yhteydessä veren glukoosi- ja insuliinipitoisuuksien muutoksiin. Sykevaihtelumuuttujissa oli suurta hajontaa, joten osa vasteista ja juomien välisistä eroista jäi heikoksi. Valmistautumisohjeiden noudattaminen vaikutti sykevaihtelumittaustulosten hajontaan. Tutkimuksen verenpainemittaustulokset vaativat jatkoselvityksiä, koska verenpainemittaustekniikoiden tulokset erosivat toisistaan.

Tutkimuksessa hiilihydraattipitoiset juomat nostivat veren insuliini- ja glukoosipitoisuuksia ja veden juominen puolestaan ei. Kliinisissä glukoosirasituskokeissa käytetty 75 gramman glukoosiannos ei vaikuttanut sykkeeseen tai kokonaissykevaihteluun. Sykevaihtelumuuttujista saatiin viitteitä glukoosin sydämen parasympaattista säätelyä vähentävästä vaikutuksesta. Veden juominen laski sykettä, lisäsi kokonaissykevaihtelua ja muiden sykevaihtelumuuttujien perusteella lisäsi sydämen parasympaattista säätelyä. Juoman sisältämällä bioaktiivisilla aineilla ei ollut vaikutusta veren glukoosipitoisuuden muutoksiin, mutta muita johtopäätöksiä bioaktiivisten aineiden vaikutuksista tutkimuksen perusteella ei voida tehdä.

Barorefleksin ja verenpaine- ja sykevaihtelun analysoiminen muilla kuin nyt käytetyllä Fast Fourier Transformation-menetelmällä saattaisi parantaa tutkimusmenetelmän toimivuutta ravinnon välittömien vaikutusten tutkimisessa. Tutkimusasetelmassa kontrollikerta ilman aterialla mahdollistaisi sykevaihtelurekisteröintien ja -analyysien toistettavuuden paremman arvioimisen.

Sydämeen kohdistuvalla autonomisen hermoston säätelyllä on todettu olevan yhteyttä sairauksiin. Toisaalta ravinnolla on vaikutuksia autonomisen hermoston toimintaan sydämessä. Kuitenkin näissä yhteyksissä ja vaikutuksissa on vielä paljon epäselvyyksiä. Tässä tutkimuksessa testatun tutkimusmallin kehittäminen toistettavaksi ja herkäksi menetelmäksi edistäisi vastauksien etsimistä osaan näistä kysymyksistä.

9 Läheteet

Antelmi I, Silva De Paula R, Shinzato AR, Peres CA, Mansur AJ, Grupi CJ. Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease. *Am J Cardiol* 2004;93:381-385.

Aubert AE, Seps B, Beckers F. Heart rate variability in athletes. *Sports Med* 2003;33:889-919.

Baak van MA. Meal-induced activation of the sympathetic nervous system and its cardiovascular and thermogenic effects in man. *Physiol Behaviour* 2007.

Baron AD. Hemodynamic actions of insulin. *Am J Physiol* 1994;267:E187-E202.

Berne GG, Bigger JT, Eckberg DJ, ym. Heart rate variability: Origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology* 1997;34:623-648.

Berne CG, Fagius J, Niklasson F. Sympathetic response to oral carbohydrate administration. *J Clin Invest* 1989;84:1403-1409.

Bilchic KC, Berger RD. Heart rate variability. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006;17:691-694.

BMEYE B. V. Nexfin HD Operator's manual. Netherlands. 2007.

Boer de RW, Karemaker JM, Strackee J. Hemodynamic fluctuations and baroreflex sensitivity in humans: a beat-to-beat model. *Am J Physiol* 1987;253:680-689.

Borne van de P, Hausberg M, Hoffman RP, Mark AL, Anderson EA. Hyperinsulinemia produces cardiac vagal withdrawal and nonuniform sympathetic activation in normal subjects. *Am J Physiol* 1999;276:178-183.

Brown CM, Barberini L, Dulloo AG, Montani J-P. Cardiovascular responses to water drinking: does the osmolality play a role? *Am J Physiol* 2005;289:R1687-R1692.

Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications. *Diabetes* 2005;54:1-7.

Cesarone MR, Belcaro G, Rohdewald P, Pellegrini L, Ledda A, Vinciguerra G, ym. Improvement of diabetic microangiopathy with Pycnogenol®: a prospective, controlled study. *Angiology* 2006;57:431-436.

Christensen JH, Christensen MS, Dyerberg J, Schmidt EB. Heart rate variability and fatty acid content of blood cell membranes: a dose response study with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1999;70:331-337.

- Cohen MA, Taylor JA. Short-term cardiovascular oscillations in man: measuring and modelling the physiologies. *J Physiol* 2002;542:669-683.
- Dandona P, Chaudhuri A, Ghanim H, Mohanty P. Proinflammatory effects of glucose and anti-inflammatory effect of insulin: relevance to cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2007;99:15B-26B.
- Dulloo AG, Seydoux J, Girardier L, Chantre P, Vandermader J. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. *Inter J Obes* 2000;24:252-258.
- Eckberg D. Physiological basis for human autonomic rhythms. *Annals Med* 2000;32:341-349.
- Erling A, Hoffman RP, Balon TW, Sinkey CA, Mark AL. Hyperinsulinemia produces both sympathetic and vasodilatation in normal humans. *J Clin Invest* 1991;87:2246-2252.
- Esposito K, Nappo C, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliaro L, Ceriello A, Giugliano D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002;106:2067-2072.
- Fekedulegn DB, Andrew ME, Burchfield CM, Violanti JM, Hartley TA, Charles LE ym. Area under the curve and other summary indicators of repeated waking cortisol measurements. *Psychosomatic Med* 2007;69:651-659.
- Finapres Medical system: Technology.http://www.finapres.com/customers/volume_clamp.php.(katsottu 30.3.2008).
- Fu CH, Yang CCH, Lin CL, Kuo TBJ. Effects of long-term vegetarian diets on cardiovascular autonomic functions in healthy postmenopausal women. *Am J Cardiol* 2006;97:380-384.
- Ghanim H, Chaudhuri A, Mohanty P, Sia CL, Pathak R, Dandona P. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response. *Diabetes Care* 2007;30:1406-1411.
- Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 11.painos. Philadelphia, London, New York, St.Louis, Sydney, Toronto. W.B. Saunders Company;2006. s.103-130, 161-180, 195-215, 232-245.
- Halimi JM, Bonnet M, Lange F, Balkau C, Tichet J, Marre M. Urinary albumin excretion is a risk factor for diabetes mellitus in men, independently of initial metabolic profile and development of insulin resistance. The DESIR Study. *J Hypertension* 2008;11:2198-2206.

Hautala A, Tulppo MP, Mäkikallio TH, Laukkanen R, Nissilä S, Huikuri HV. Changes in cardiac autonomic regulation after prolonged maximal exercise. *Clinical Physiol* 2001;21:238-245.

Helminen T, Viteli-Hietanen M (toim.). Tyypin 1 diabetes, Opas nuoruustyypin diabeetikolle. Diabetesliiton oppaat. Jyväskylä 2000.

Hilz MJ, Dutsch M. Quantitative studies of autonomic function. *Muscle Nerve* 2006;33:6-20.

Hirshoren N, Tzoran I, Makrienko I, Edoute Y, Plawner MM, Itskovitz-Eldor J, Giris J. Menstrual cycle effects on the neurohumoral and autonomic nervous system regulating the cardiovascular system. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1569-1575.

HUSLAB, Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri: Tutkimusohjekirja.<http://www.hus.fi> (katsottu 1.10.2007).

Imholz BPM, Wieling W, Montfrans van GA, Wesseling KH. Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovascular Research* 1998;38:605-616.

Jansen RWMM, Lipsitz LA. Postprandial hypotension: epidemiology, pathophysiology, and clinical management. *Ann Intern Med* 1995;122:286-295.

Jordan J, Shannon JR, Black BK, Ali Y, Farley M, Costa F ym. The pressor response to water drinking in humans: a sympathetic reflex? *Circulation* 2000;101:504-509.

Kelsey RM, Blascovich J, Leitten CJ, Schneider TR, Tomaka J, Wiens S. Cardiovascular reactivity and adaptation recurrent psychological stress: The moderating effects of evaluative observation. *Psychophysiology* 2000;37:748-756.

Keskinen KL, Häkkinen K, Kallinen K. Kuntotestauksen käsikirja. Liikuntatieteellinen Seura. Helsinki. 2004.

Lu C-L, Zou X, Orr WC, Chen JDZ. Postprandial changes of sympathovagal balance measured by heart rate variability. *Digest Dis Sci* 1999;44:857-861.

Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991;84:482-492.

Matthews JNS, Altman DG, Campbell MJ, Royston P. Analysis of serial measurements in medical research. *BMJ* 1990;300:230-235.

McArdle W, Katch F, Katch V. Exercise physiology energy, nutrition & human performance. 6.painos. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo.Lippincott Williams & Wilkins;2006.s.313-332, 333-350.

Minson CT, Halliwill JR, Young TM, Joyner MJ. Influence of the menstrual cycle on sympathetic activity, baroreflex sensitivity, and vascular transduction in young women. *Circulation* 2000;101:862-868.

Mohanty P, Hamouda W, Garg R, Aljada A, Ghanim H, Dandona P. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2970-2973.

Mozaffarian D, Stein PK, Prineas RJ, Siscovick DS. Dietary fish and ω -3 fatty acids consumption and heart rate variability in US adults. *Circulation* 2008;117:1130-1137.

Mozaffarian D, Geelen A, Brouwer IA, Geleijnse JM, Zock PL, Katan MB. Effect of fish oil on heart rate in humans. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Circulation* 2005;112:1945-1952.

Ophthof T. The normal range and determinants of the intrinsic heart rate in man. *Cardiovascular Res* 2000;45:177-184.

Orshoven van NP, Schelven van LJ, Akkermans LMA, Jansen PAF, Horowitz M, Feinle-Bisset C, ym. The effect of intraduodenal glucose on muscle sympathetic nerve activity in healthy young and older subjects. *Clin Auton Res* 2008;18:28-35.

Paolisso G, Manzella D, Ferrera N, ym. Glucose ingestion affects cardiac ANS in healthy subjects with different amounts of body fat. *Am J Physiol* 1997;273:E471-E478.

Paolisso G, Manzella D, Rizzo MR, Barbieri M, Gambarella A, Varricchio M. Effects of glucose ingestion on cardiac autonomic nervous system in healthy centenarians: differences with aged subjects. *Eur J Clin Invest* 2000;30:277-284.

Parati G, Di Rienzo M. Determinants of heart rate and heart rate variability. *J Hypertension* 2003;21:477-480.

Pellizzer A-M, Straznicky NE, Lim S, Kamen PW, Krum H. Reduced dietary fat intake increases parasympathetic activity in healthy premenopausal women. *Clinical And Exp Pharm Physiol* 1999;26:656-660.

Pitzalis MV, Mastropasqua F, Massari F, Passantino A, Colombo R, Mannarini A, Forleo C, Rizzon P. Effect of respiratory rate on the relationships between RR interval and systolic blood pressure fluctuations: a frequency-dependent phenomenon. *Cardiovascular Res* 1998;38:332-339.

Pober DM, Braun B, Freedson PS. Effects of a single bout of exercise on resting heart rate variability. *Med Sci Sport Exer* 2004;36:1140-1148.

Rauh R, Burkert M, Siepmann M, Mueck-Weymann M. Acute effects of caffeine on heart rate variability in habitual caffeine consumers. *Clin Physiol Funct Imag* 2006;26:163-166.

Raven PB, Potts JT, Shi X, Pawelczyk J. Baroreceptor-mediated reflex regulation of blood pressure during exercise. Teoksessa: Saltin B, Boushel R, Secher N, Mitchell J, toim. Exercise and circulation in health and disease. United States: Human Kinetics; 2000. s.3-22.

Routledge HC, Chowdhary S, Coote JH, Townend JN. Cardiac vagal response to water ingestion in normal human subjects. *Clin Sci* 2002;103:157-162.

Sandercock GRH, Brodie DA. The use of heart rate variability measures to assess autonomic control during exercise. *Scand J Med Sci Sports* 2006;16:302-313.

Sandercock GRH, Bromley PD, Brodie D. Effects of exercise on heart rate variability: Inferences from meta-analysis. *Med Sci Sports Exer* 2005;37:433-439.

Satoh H, Sperelakis N. Review of some actions of taurine on ion channels of cardiac muscle cells and others. *Gen Pharmac* 1998;30:451-463.

Scherrer U, Sartori C. Insulin as a vascular and sympathoexcitatory hormone. *Circulation* 1997;96:4104-4113.

Scholey AB, Kennedy DO. Cognitive and physiological effects of an "energy drink": an evaluation of the whole drink of glucose, caffeine and herbal flavouring fractions. *Psychopharmac* 2004;176:320-330.

Schroeder EB, Chambless LE, Liao D ym. Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability. *Diabetes Care* 2005;28:668-674.

Shvartz E, Reibold R. C. Aerobic fitness norms for males and females aged 6 to 75 years: a review. *Aviat Space Environ Med* 1990;61: 3-11.

Skoog SM, Bharucha AE. Dietary fructose and gastrointestinal symptoms: a review. *Am J Gastroenterol* 2004;99:2046-2050.

Snitker S, Macdonald I, Ravussin E, Astrup A. The sympathetic nervous system and obesity: role in aetiology and treatment. *Obes Rev* 2000;1:5-15.

Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Verenpaineystödistys ry:n asettama työryhmä: Käypähoitosuositus; kohonnut verenpaine. Hoitosuositus. <http://www.kaypahoito.fi>. (katsottu 3.9.2008).

Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen lihavuustutkijat ry:n asettama työryhmä; aikuisten lihavuus. Hoitosuositus. <http://www.kaypahoito.fi>. (katsottu 3.9.2008).

Tarkiainen TH, Timonen KL, Tiittanen P, Hartikainen JE, Pekkanen J, Hoek G, Ibal-Mulli A, Vanninen EJ. Stability over time of short-term heart rate variability. *Clin Auton Res* 2005;15:394-399.

Task force of the European society of cardiology the North American society of pacing electrophysiology. Heart rate variability. *Circulation* 1996;93:1043-1065.

Tentolouris N, Tsigos D, Perea D, ym. Differential effects of high-fat and high-carbohydrate isoenergetic meals on cardiac autonomic nervous system activity in lean and obese women. *Metabolism* 2003;52:1426-1432.

Tentolouris N, Liatis S, Katsilambros N. Sympathetic system activity in obesity and metabolic syndrome. *AnnNY AcadSci*. 2006;1083:129-152.

Tracey KJ. The inflammation reflex. *Nature* 2002;420:853-859.

Tuomainen P, Peuhkurinen K, Kettunen R, Rauramaa R. Regular physical exercise, heart rate variability and turbulence in a 6-year randomized controlled trial in middle-aged men: the DNASCO study. *Life Sciences* 2006;77:2723-2734.

Uusitalo ALT, Laitinen T, Väisänen SB, Länsimies E, Rauramaa R. Physical training and heart rate and blood pressure variability: a 5-yr randomized trial. *Am J Physiol* 2004;286:H1821-1826.

Weissman A, Lowenstein L, Peleg A, Thaler I, Zimmer EZ. Power spectral analysis of heart rate variability during the 100-g oral glucose tolerance test in pregnant women. *Diabetes Care* 2006;29:571-574.

Westerterp-Plantenga M, Diepvens K, Joosen AMCP, Berube-Parent S, Tremblay A. Metabolic effects of spieces, teas and caffeine. *Physiol Behav* 2006;89:85-91.

WHO (World Health Organization). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. Report of a WHO/IDF consultation. Geneva, Switzerland, 2006.

Visvanathan R, Chen R, Horowitz M, Chapman I. Blood pressure responses in healthy older people to 50 g carbohydrate drinks with differing glycaemic effects. *Br J Nutr* 2004;92:335-340.

Wolever TMS, Jenkins DJA, Jenkins AL, Josse RG. The glycemic index: methodology and clinical implications. *Am J Clin Nutr* 1991;54:846-854.

Vollenweider P, ym. Differential effects of hyperinsulinemia and carbohydrate metabolism on sympathetic nerve activity and muscle blood flow in humans. *J Clin Invest* 1993;92:147-154.

Volund A. Conversion of insulin units to SI units. *Am J Clin Nutr* 1993;58:714-715.

Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomas-Barberan FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Food Human Nutr*. 2004;59:113-122.

Yeragani VK, Krishnan S, Engels HJ, Gretebeck R. Effects of caffeine on linear and nonlinear measures of heart rate variability before and after exercise. *Depression Anxiety* 2005;21:130-134.

Yhtyneet Laboratoriot Oy. Laboratoriokäsikirja 2008 – 2009. Helsinki 2007.

Zollei E, Csillik A, Rabi S, Gingl Z, Rudas L. Respiratory effects on the reproducibility of cardiovascular autonomic parameters. *Clin Physiol Imaging* 2007;27:205-210.

Tutkimuksessa käytetyt välineet, tarvikkeet, pika-analyysit ja laitteet

Veren hemoglobiini

Dr. Lange Cuvette Test LKM 143; LKM 143

Spektrofotometri: Dr. Lange Miniphotometer plus LP 20

Kyvetissä: 18 mmol/l natriumhydroksi karbonaatti, 0,768 mmol/l kaliumsyaniidi, 0,608 mmol/l kalium heksasyanoferraatti (III)

Syanomethemoglobiini menetelmä:

Näytteen hemoglobiini muuttuu kyvetissä syanomethemoglobiiniksi kaliumsyanidin ja kalium heksasyanoferraatin avulla. Spektrofotometrillä määritetään syanomethemoglobiinin määrä näytteessä 520 nm aallonpituudella

Veren hematokriitti

Hirschmann® Laborgeräte, Saksa: Ammonium-hepariinia sisältävä kapillaari, 75mm/75µl, D.A. 1,5 - 1,6 mm, 9100475. Labortechnik, Saksa: Hermle Z 200 M/H hematokriittisentrifugi 46970240, 1997

MSE, Englanti; mikrohematokriittimittari

Menetelmä: EDTA- verta ammonium-hepariini- kapillaariin, sentrifugointi viisi minuuttia, 9000 kierrosta minuutissa (rpm). Hematokriittimittarin avulla mitataan kapillaarissa olevien punasolujen osuus kokoveripatsaasta.

Plasman glukoosipitoisuus

Arta Plast AB, Ruotsi: Haemolance™ Verinäytteenottolansetti, lot no: 25-906. Pistosyvyys 1,8 mm.

Glukoosipikamittari: Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68298 Mannheim, Saksa: Accu-Chek Sensor, 3149145. Testiliuskat: Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68298 Mannheim, Germany: Accu-Chek Sensor Comfort. Mittausalue: 0,6-33,3 mmol/l, 03261964170, lot: 549667, exp: 2008-06. Testiliuskassa: kaliumferriysyanidi 43,7%, glukoosidehydrogenaasi 1,2%, puskuri 24,7%, stabilointiaine 19,4%, inerttejä aineosia 11,0%

Menetelmä:

Verinäytteen glukoosi muuttuu glukonolaktoniksi liuskan glukoosidehydrogenaasin ja koentsyymin vaikutuksesta. Reaktio aiheuttaa sähkövirran, jonka pikamittari pystyy muuttamaan plasman glukoosipitoisuuden arvoksi.

Virtsan glukoosi- ja proteiinipitoisuudet

Bayer Diagnostics Mfg., Ltd. Bridgend CF31 3TY, Englanti, Uristix® Virtsakoeliuska, U-glukoosi, U-proteiini, 2857 (04010718) lot: 7D06A, exp: 2009-04. Testialue, glukoosi: 4 - 7 mmol/l, proteiini: 0,15 - 0,3 g/l.

Reagenssit: proteiini: tetrabromfenolisini 0,3 % w/w, puskuri 97,3 % w/w, 2,4 % w/w reagoimattomia aineosia. Glukoosi: glukoosioksidaasi 2,2 % w/w, peroksidaasi 1 % w/w, kaliumjodidi 8,1 % w/w, puskuri 69,8 % w/w, reagoimattomat aineosat 18,9 % w/w

Menetelmä:

Glukoosioksidaasin katalysoimana glukoosi hapettuu ja muodostuu glukonihappoa ja vetyperoksidia. Vetyperoksidi puolestaan reagoi kaliumjodidiväriaineen kanssa peroksidaasin katalysoimana, jolloin väriaine hapettuu ja muuttaa väriään.

Verinäytteenotto

Verinäyteputket: Terumo®, Belgia: Venosafe™: EDTA- putki, 5 ml 13 x 75 mm, vetoisuus 3 ml, 5,9 mg K2 EDTA, pysäytyspäällystys: silikoni, lot: 0706024, exp. 2008-11.

Terumo®, Belgia: Venosafe™: seerumiputki, 10 ml 16 x 100mm, vetoisuus 9 ml, sisäinen päällystys: silikoni, pysäytyspäällystys: silikoni, hyytymisaktivaattori, ref: VF- 109 SP, lot: 0704031, exp. 2008-09.

Terumo®, Belgia: Venosafe™: glukoosiputki, 5 ml 13 x 75 mm, vetoisuus 2 ml, 15 mg fluoriidi FC-mixture, pysäytyspäällystys: silikoni, ref: VF- 052SFC, lot: 070358, exp: 2008-08. Treff AG CH-9113, Sveitsi: Trefflab: mikrosentrifugiputki, 1,5 ml polypropyleeniputki, no: 96.07246.9.01

Terumo®, Belgia: Venoject™ Quick fit multi sample –vakuuminäytteenottoneula, koko: 20G, 0,9 x 25 mm
ref: MN-2025MQ, lot:0707010, exp: 2009-12

Kanyylitarvikkeet: Terumo®, Belgia: Versatus™ i.v. kanyyli lääkkeenantoportilla

Koko: 18G, 1,30 x 45 mm, virtaus: 96 ml/min, SR+DU 1845PX, lot: 21-70162, exp: 2012-02

Terumo®, Belgia: Mandriini, 18G, 1,30 x 45 mm, SO+DM 1845P, lot: 51-70183, exp: 2012-03

Terumo®, Belgia: Venoject™ Quick fit sovituskappale (Luer adapter), XX-MN2000Q, lot:0705007,
exp:2009-10

Lohmann & Rauscher International GmbH&Co, Saksa: Curapor®: kanyylin kiinnitysteippi, 8,8 x 6,5 mm,
30520, lot:3003077, exp:2012-01

12- kanavainen sydänfilmi

3M Health Care D-41453, Saksa: 3M Red Dot™ Ag/AgCl kertakäyttöinen valvontaelektrodi
kangasteippausta ja kiinteä geeli, 2255, lot: 2009-06PZ.

Welch Allyn Cardio Control B.V., USA: CardioPerfect, EKG-tallennus- ja analyysiohjelma
versio: 1.5.1.435

Spirometria

Medikro Oy, Suomi: Medikro Spiro2000, spirometrian analyysiohjelma

tyyppi: Windows adapter unit for Medikro DOS Spirometers, malli: M9456, versio: v1.8

Kehonkoostumusanalysointilaite

Biospace Co., Ltd., Korea: Inbody 720 DM-0420, 035/139, 40AM-J6-01/40AP-J3-08

Sykevälivaihtelu

1- kanavainen EKG, hengityspletysmografia

ADInstruments Pty Ltd., Australia: Powerlab hardware, signaalinkeräysyksikkö
malli: MC880, sarjanumero: 1630-0469.

ADInstruments Pty Ltd., Australia: Bioamplifier, signaalivahvistin
malli: ML135Dual Bio Amp, sarjanumero: DB1082.

ADInstruments Pty Ltd., Australia: Powerlab software- Chart™5 Pro, signaalianalysointiohjelma
v5.5.1, 18.12.2007.

ADInstruments Pty Ltd., Australia: Powerlab software- Chart™5 Pro, signaalianalysointiohjelma, HRV-
moduuli

Jatkuvatoiminen lyönti lyönniltä (beat-by-beat) verenpainemittaus

monitori: BMEYE B.V., Hollanti: Nexfin HD, model 1, YM070513

Plasman glukoosipitoisuus

HUSLAB:n kliinisessä laboratoriossa rutiinikäytössä oleva akkreditoitu menetelmä; aikaerotteinen
immunofluorimetria.

Seerumin insuliinipitoisuus

HUSLAB:n kliinisessä laboratoriossa rutiinikäytössä oleva akkreditoitu menetelmä: fotometrinen
heksokinaasi.

Seerumin lipidimääritykset

Seerumin kokonaiskolesteroli määritettiin entsymaattisesti, HDL-kolesteroli suoralla menetelmällä ja LDL-kolesteroli laskennallisesti edellisten avulla (Yhtyneet laboratoriot Oy 2007). Myös triglyseridien määrittäminen oli entsymaattinen. Analyysit suoritettiin kaupallisessa keskuslaboratoriossa, jossa ko. määritykset ovat akkreditoituja.

Ravintolaskentaohjelma

Diet32, Aivo Finland Oy, Suomi

Lämpömittari

Ebro Electronic GmbH & Co. KG, Saksa: Thermometer TLC 1598 1340-1620, sarjanumero: 10214484

Elintarvikevaaka

Scaltec Instruments, Saksa: Scaltec SPO 63, 70206758, XX18-0039

pH-mittari

WTW Wissenschaftlich- Technische Werkstätten, Saksa: pH 330i/SET, tilausnumero: 2A20-1012

Glukoosijauhe

Caesar & Lorenz GmbH, Saksa: glucose anhydr.ph.eur (rypälesokeri, dekstroosi)
Tnr 0782029, erä:93/2008, käyt. vim. 31.8.2009 pH:5,0

Tiedote tutkittavalle

Hiilihydraattipitoisen juoman fysiologiset vaikutukset

Tutkimuksen taustaa

Hiilihydraattipitoinen ateria aiheuttaa elimistössä fysiologisia vasteita, jotka saattavat muuttaa elimistön toimintaa pitkällä aikavälillä ja lisätä mm. lihomisen, tyypin 2 diabeteksen ja sepelvaltimotaudin riskiä. Autonomisella hermostolla on keskeinen merkitys sydän- ja verenkiertoelimistön säätelyssä. Paasto pienentää ja hiilihydraattipitoisen aterian lisää autonomisen hermoston aktiivisuutta sekä ihmis- että eläinkokeissa. Hiilihydraattipitoisen aterian välittömiä vaikutuksia ihmisen sydän- ja verenkiertoelimistön toimintaan on kuitenkin tutkittu vähän. Ruoassa voi olla myös muita yhdisteitä (nk. bioaktiivisia aineita), jotka vaikuttavat elimistössä autonomisen hermoston toimintaan ja energiankulutukseen. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on kehittää tutkimusmalli, jonka avulla voidaan tutkia aterian aiheuttamia muutoksia elimistön glukoosi- ja insuliini energia-aineenvaihdunnassa sekä autonomisen hermoston toiminnassa, tutkittavien levätessä. Tutkimusmallin avulla selvitämme, tapahtuuko sydän- ja verenkiertoelimistön toiminnassa autonomisen hermoston välittämiä muutoksia hiilihydraattia sisältävän juoman nauttimisen jälkeen ja ovatko muutokset yhteydessä elimistön glukoosi-, insuliini- ja tulehdusvasteisiin sekä elimistön antioksidanttipuolustukseen.

Kuka voi osallistua tutkimukseen?

Tutkimukseen voi osallistua terve, normaalipainoinen ja – kuntoinen, mielellään tupakoimaton 18–45-vuotias mies. Tutkimukseen otetaan 10 tutkimushenkilöä. Tutkittavien ruokavalion tulisi olla tavanomainen suomalainen ruokavalio, joka koostuu sekä eläin- että kasvikkunnan tuotteista. Tutkimuksessa otetaan verinäytteitä, yhteensä noin viiden viikon aikana enintään 340 ml (verenluovutuksessa n. 450 ml). Tämän takia tutkimusta edeltävän kahden kuukauden aikana ei saa osallistua verinäytteenottoon.

Tutkimuspaikka

Tutkimus suoritetaan Urheilulääketieteen säätiön tiloissa Helsingin Urheilulääkäriasemalla Meilahdessa (Paasikivenkatu 4, 00250 Helsinki).

Esitutkimuskäynti

Tutkimusta edeltää esitutkimuskäynti, jonka tarkoituksena on varmistua koehenkilöhdokkaiden sopivuudesta tutkimukseen. Koehenkilöt täyttävät kyselyn terveydestään, ruokailutottumuksistaan sekä liikunta-aktiivisuudestaan. Esitutkimuskäynnillä otetaan sydänsähkökäyrä (EKG) ja tehdään puhallustesti (spirometria). Kynärtaipeen laskimoverinäytteestä mitataan hemoglobiini ja hematokriitti sekä sormenpääverinäytteestä glukoosipitoisuus. Virtsanäytteestä tarkistetaan, että virtsassa ei ole sokeria tai proteiinia. Tutkimuskäyntiin kuuluu myös lääkärintarkastus. Esitutkimuskäynnillä sovitaan tutkijan kanssa varsinaiset tutkimuspäivät sekä annetaan ohjeet neljän ruokapäiväkirjan täyttämiseen tutkimusaamuja edeltävän päivän ajalta.

Esitutkimuskäyntiä varten sovitaan aika Harriet Hägglundin kanssa (katso yhteystiedot tiedotteen lopusta). Ennen mittauksia pitää olla syömättä ja juomatta vähintään kolme tuntia.

Tutkimuspäivät

Varsinaisia tutkimuspäiviä on neljä ja ne ovat noin viikon välein. Tutkimusta edeltävänä päivänä tulee välttää raskasta liikuntaa tai muuta raskasta. Alkoholia ei saa nauttia tänä aikana. Päivää ennen tutkimusta pitää välttää teen, kaakaon ja suklaan, hedelmien, marjojen ja tiettyjen kasvien sekä energia- ja urheilujuomien käyttöä. Lisäksi hiilihydraatteja pitäisi saada ravinnosta vähintään 150 g. Tupakointi on kielletty tutkimusaamuna. Tutkimuspaikalle saavutaan autolla tai julkisilla kulkuneuvoilla ylimääräistä liikuntaa välttäen tutkimusaamuina klo 8.00-9.00. Tutkimukseen tulee varata aikaa noin neljä tuntia. Tutkimukseen valmistautumisesta annetaan erilliset ohjeet.

Fysiologisia mittauksia varten tutkittavan iholle asetetaan erilaisia antureita. Tutkittavat lepäävät rauhallisessa huoneessa makuuasennossa koko tutkimuksen ajan eli kaikkiaan noin kolme tuntia. Heiltä kerätään paastotilanteen mittaustietoa puolen tunnin ajan. Heille asetetaan laskimoon kanyyli, josta otetaan tutkimuksen aikana kahdeksan verinäytettä, lisäksi yksi verinäyte otetaan sormenpäästä. Tutkittavat nauttivat 300 ml tutkimusjuomaa. Juoman nauttimisen jälkeen mittaukset ja verinäytteet jatkuvat kahden ja puolen tunnin ajan.

Koejuomat

Tutkimuksessa juodaan neljää koejuomaa, jotka eroavat toisistaan mm. sokerikoostumuksensa ja happamuutensa sekä bioaktiivisten aineiden määrän suhteen. Kahdessa juomassa suurin osa niiden sisältämistä hiilihydraateista on fruktoosia, loput glukoosia. Toisessa on lisäksi bioaktiivisia aineita, kuten guaranaa ja mm. mehujen sisältämiä vitamiineja ja flavonoideja. Yksi juomista on glukoosiliuos ja yksi on vettä. Kaikki juomat valmistetaan elintarvikekäyttöön tarkoitetuista raaka-aineista. Koejuoma juodaan läpinäkyvästä numerokoodilla merkitystä pullosta. Tutkittavat saavat tarkempaa tietoa koejuomien sisällöstä vasta tutkimuksen päätyttyä.

Näytteet ja fysiologiset mittaukset

Verinäytteitä otetaan laskimokanyylistä ennen juoman nauttimista sekä ajanhetkillä 15, 30, 45, 60, 90, 120 ja 150 minuuttia juoman nauttimisesta. Mittaustietoja (sydämen syke, verenpaine ja kudosten happipitoisuus) kerätään koko tutkimuksen ajan. Tutkimuskerran laskimoverinäytteistä analysoidaan seerumin glukoosipitoisuudet, osasta myös triglyseridi- ja insuliinipitoisuudet, sekä seerumin kokonaiskolesteroli, HDL- ja LDL-kolesteroli ja tulehdukseen ja elimistön antioksidanttipuolustukseen liittyviä merkkiaineita. Fysiologisilla mittauksilla kerätään tietoa sydämen sykkeestä ja verenpaineesta, kudosten hapettumisesta ja energiankulutuksesta.

Tutkimuksesta koituvat hyödyt tutkittaville

Tutkimuksesta ei makseta tutkittaville palkkioita. Jokaisen varsinaisen tutkimuspäivän päätteeksi tutkittavat saavat lounaslipukkeen läheiseen lounasravintolaan. Lisäksi tutkittavat saavat tutkimuksen päätyttyä tietoa omasta terveydestään mm. lääkärintarkastuksesta, veriarvoistaan ja kehonsa koostumuksesta. Tutkittavat saavat myös analyysiin ruoankäytöstään täyttämänsä kolmen päivän ruokapäiväkirjan perusteella.

Tutkimuksen mahdolliset haitat tutkittaville

Tutkimuspäivään valmistautuminen edellyttää ohjeiden noudattamista (liikuntaan, ruokailuun ja nautintoaineisiin liittyvät rajoitukset). Tutkimusjuomien koostumukset vastaavat urheilujuomaa. Hiilihydraattipitoisen juoman nauttiminen yöpaaston jälkeen voi aiheuttaa lievää pahoinvointia. Mahdolliset osallistumisen estävät ruoka-aineallergiat selvitetään esitutkimuksessa. Verinäytteet ottaa ammattitaitoinen henkilö. Näytteenotossa noudatetaan yleisesti hyväksyttyjä hygieniasääntöjä ja käytetään uudenaikaista välineistöä. Tutkimuskerran aikana otettava verimäärä laskimosta on

enintään 80 ml ja esitutkimus mukaan lukien yhteensä enintään 340 ml (verenluovutuksessa otetaan n. 450 ml verta). Verinäytteistä tai fysiologisesta mittauksista ei aiheudu tutkittaville kohtuutonta kipua tai muuta haittaa. Kyynärtaive voi kuitenkin olla tutkimuspäivän jälkeen arka. Tutkittavat on vakuutettu. Tutkimuspaikassa on tutkimuksen aikana paikalla lääkäri.

Tutkittavan oikeudet ja tietoturva

Tutkimukseen osallistuminen on täysin vapaaehtoista. Tutkittavilla on oikeus keskeyttää tutkimus milloin vain, ilman että se vaikuttaa millään tavoin tutkittavan kohteluun. Tietoja omista mittaustuloksistaan saa, vaikka keskeyttäisi tutkimuksen. Mikäli tutkimuksen aikana tutkittavan terveydestä ilmenee lääkärin hoitoa vaativia seikkoja, hänet ohjataan hoitoon. Tutkimushenkilöitä koskevia tietoja käsitellään luottamuksellisesti. Tietosuojaa varmistetaan fysiologisten mittausten, laboratorioanalyysien, tulosten tallentamisen ja tietojen säilytyksen aikana numerokoodien avulla. Henkilötietolomakkeet säilytetään muusta tutkimusmateriaalista erillään. Tutkimusmateriaali säilytetään Helsingin yliopiston liikuntalääketieteen yksikössä lukituissa tiloissa ja hävitetään kymmenen vuoden kuluttua. Tutkimuksen tulokset esitetään niin, että tutkittavien henkilöllisyys ei niistä paljastu. Tutkimuksen yhteydessä muodostuvaa tutkimusrekisteriin tallennetaan vain tutkittavien itsensä antamia tai tutkimuksen aikana mitattuja tietoja. Tutkimusrekisteristä on laadittu henkilötietolain mukainen rekisteriseloste, joka on nähtävillä tutkimuspaikassa. Tutkimuksen rekisterinpitäjä on Helsingin yliopisto, liikuntalääketieteen yksikkö/Urheilulääketieteen säätiö (Paasikivenkatu 4, 00250 HELSINKI).

Aikataulu

Tutkimus on tarkoitettu suorittaa talven 2007-2008 aikana. Yhden tutkimushenkilön koepäivät ajoittuvat 5 viikon ajalle.

Vastaamme mielellämme tutkimusta koskeviin tiedusteluihin!

Tutkimuksen suorittaja:

Harriet Hägglund, elintarviketieteiden ylioppilas, bioanalyytikko

Helsingin yliopisto, ravitsemustieteen osasto

Puh:

Email:

Vastuututkija:

Riitta Freese, ETT, dos.

Helsingin yliopisto, ravitsemustieteen osasto

p.

Email:

Tutkimuksen vastaava lääkäri:

Heikki Tikkanen, LT, dos.

Helsingin yliopisto, liikuntalääketieteen

yksikkö/Urheilulääketieteen säätiö

p.

Email:

Tutkimus: "Hiilihydraattipitoisen juoman fysiologiset vaikutukset"

SUOSTUMUS

Tutkimuksen "Hiilihydraattipitoisen juoman fysiologiset vaikutukset" tarkoitus, käytännön toteutus, tutkimuksen hyödyt ja haitat sekä oikeuteni on selvitetty minulle. Olen saanut vastauksen mahdollisiin kysymyksiini. Olen tietoinen, että tutkimuksen aikana neljänä tutkimusaamuna nautitaan hiilihydraattipitoista juomaa, vietetään kolme tuntia levossa, jona aikana mitataan sydämen sykettä, verenpainetta ja valtimoiden toimintaa. Tutkimuspäivän aikana minulle laitetaan laskimokanyyli, josta otetaan kahdeksan verinäytettä. Olen tietoinen, että tutkimuksesta ei makseta korvauksia. Tutkimusaamupäivän jälkeen saan lounaskupongin läheiseen lounasravintolaan. Saan tutkimuksen jälkeen tietoa omasta terveydentilastani mm. kehon koostumuksesta, veren rasva-arvoista, sydämen ja keuhkojen toiminnasta sekä lääkärintarkastuksesta. Saan myös analyysin täyttämästäni neljästä tutkimuksesta edeltävän päivän ruokapäiväkirjasta. Olen huolellisesti vastannut esitietolomakkeiden kysymyksiin, eikä tiedossani ole mitään terveydentilaani liittyvää, joka voisi estää osallistumiseni tutkimukseen.

Kaikki antamani tiedot käsitellään luottamuksellisina ja siten, ettei henkilöllisyyttäni voida tunnistaa. Ne säilytetään lukituissa tiloissa, eikä niitä luovuteta ulkopuolisille. Yhteystietoni säilytetään muista tiedoista erillään.

Osallistun tutkimukseen vapaaehtoisesti. Koehenkilönä minulla on oikeus keskeyttää osallistumiseni kokeeseen missä vaiheessa tahansa, ilman, että sillä on vaikutusta asemaani, kohteluuni tai jatkohoitoon nyt tai vastaisuudessa.

Suostumuksen allekirjoittaja

Nimi: _____

Syntymäaika: _____

Osoite: _____

Puhelin: _____

Päiväys: _____ Allekirjoitus: _____

Suostumuksen vastaanottaja

Päiväys: _____ Allekirjoitus: _____

Nimen selvennys: _____

Hiilihydraattipitoisen juoman fysiologiset vaikutukset
RUOKAPÄIVÄKIRJAN MALLISIVU

Nimi: *Matti Meikäläinen*

Pvm: *20.6.2006*

Viikonpäivä: *tiistai*

Kellonaika	Ruoat ja juomat: laatu, valmistustapa tai -ohje	Ruoan/juoman määrä#
<i>6.40</i>	<i>kahvia</i>	<i>1,5 dl</i>
<i>Koti</i>	<i>maitoa, rasvaton</i>	<i>2 rkl</i>
	<i>kaurapuuroa, keitetty veteen</i>	<i>4 dl</i>
	<i>mansikkakeittoa, Valion sokeritonta</i>	<i>1 dl</i>
	<i>appelsiinitäysmehua</i>	<i>2 dl</i>
	<i>vehnäpaahtoleipää</i>	<i>1 viipale</i>
	<i>margariinia, Flora 80% rasvaa</i>	<i>2 tl</i>
<i>9.10-10.00</i>	<i>Koiran kanssa reipas kävely n. 5 km</i>	
<i>11.00</i>	<i>keitettyjä perunoita</i>	<i>2 kananmunan kokoista</i>
<i>Ruokala</i>	<i>lihapullia, sika-nauta jauhelihasta, paistettu rypsiöljyssä</i>	<i>5 kpl</i>
	<i>kermaviilikastike</i>	<i>1 dl</i>
	<i>porkkanaraaste</i>	<i>1,5 dl</i>
	<i>kurkkua</i>	<i>8 viipaletta (ohuita)</i>
<i>15.00-15.15</i>	<i>Imurointia, ym. kodin siivousta</i>	

jatkuu
seuraavalla
sivulla

Lisätietoja: _____

nautitun ruoan/juoman määrä talousmittoina (esim. desilitra, ruokalusikallinen, lasillinen, lautasellinen), kappaleina, senttimetreinä tai grammoina

Hiilihydraattipitoisen juoman fysiologiset vaikutukset RUOKA- JA LIKUNTAPÄIVÄKIRJAN TÄYTTÖOHJEET

Ohessa saat täytettäväksesi neljä tutkimuspäivää edeltävän päivän ruokapäiväkirjaa. Merkitse päiväkirjaan kaikki, mitä syöt ja juot tuon päivän aikana sekä harrastamasi liikunta (myös ns. arkiliikunta, kuten kävely kauppaan tai koiran kanssa, siivous, lumityöt).

Merkitse tiedot lomakkeeseen heti, kun olet syönyt tai juonut jotain tai harrastanut liikuntaa, mikäli se on mahdollista. Näin asia ei unohdu ja määrien arviointi on helpompaa.

Kirjaa lomakkeen yläosaan nimesi, ruokapäiväkirjan täytön päivämäärä ja viikonpäivä.

Varsinaisen päiväkirjaosan ensimmäiseen pystysarakkeeseen merkitään aika, jolloin aloitit syömisen tai juomisen, sekä ajan alle merkitään ruokailupaikka (koti, työ, baari, ravintola jne.). Liikunnan osalta merkitse sen aloittamis- ja lopettamisaika.

Toiseen pystysarakkeeseen tulevat tiedot ruoasta ja juomasta sekä suoritetusta liikunnasta:

- Kuvaa mahdollisimman tarkasti käyttämiäsi ruokien ja juomien laadut ja määrät, sekä ruokien valmistusmenetelmä, jos se on tiedossasi (keitetty, paistettu jne.).
- On tärkeää, että teet eron esimerkiksi eri maito-, piimä-, viili-, jogurtti-, rasva- ja leikkelelaatuojen välillä.
- Merkitse eri tuotteiden täydelliset nimet, kuten ykkösmaito, piimälimppu, rypsiöljy, kermajäätelö tai kalkkunaleike.
- Mikäli tiedät tuotteen kaupanimen, kirjoita myös se, kuten Keiju Reilusti Suolattu kasvirasvavete (rasvaa 70%), Domino-keksi, Koskenlaskija-sulatejuusto (rasvaa 22%).
- Kaupasta ostetuista valmisruoista ja puolivalmisteista on hyvä mainita valmistajan nimi, kuten Apetit Puutarhurin sekoitus tai Saarioisten maksalaatikko.
- Jos valmistat itse ruoan ja sen resepti on omintakeinen, olisi hyvä, jos liittäisit sen mukaan. Ilmoita myös ruoanvalmistuksessa käytetyn rasvan, nesteen yms. laatu.
- Liikunnan osalta merkitse sen laji (kävely, hölkkä, mattojen tamppaus) ja teho, nopeus, pituus tai muu kuvaus (esim. reipas 6 km kävely koiran kanssa).

Kolmanteen pystysarakkeeseen merkitään nautitun ruoan tai juoman määrä:

- Merkitse syömiäsi annos talousmittoina (tee- ja ruokalusikallisine, desilitroina, lasillisina, lautasellisina), kappaleina, senttimetreinä tai grammoina mikäli tiedät sen (esimerkiksi paino on ilmoitettu pakkauksessa). Apuna voit käyttää annoskuvakirjaa, merkitse kyseistä annosta kuvaava numero ja kirjain.
- Kirjaa vain todella syödyt ja juodut määrät, ei esimerkiksi lautaselle jäänyttä osaa.

Tutustu päiväkirjan täyttämiseen liitteenä olevan mallisivun avulla.

Käytä tietojen kirjaamiseen niin monta sivua kuin tarvitset. Mikäli tila loppuu kesken, jatka tarvittaessa lomakkeen kääntöpuolelle. Päiväkirjan täyttämässä liittyvissä ongelmissa voit tarvittaessa ottaa yhteyttä tutkija Harriet Hägglundiin.

Palauta tutkimusta edeltävän päivän osalta täytetty päiväkirja ja annoskirja tullessasi tutkimuspäivän mittauksiin.

Kaikkia antamiasi tietoja käsitellään täysin luottamuksellisesti. Kiitos arvokkaasta panoksestasi!

Harriet Hägglund, elintarviketieteiden ylioppilas
Helsingin yliopisto, ravitsemustieteen osasto
Puh:
Email:

Riitta Freese, ETT, dos.
Helsingin yliopisto, ravitsemustieteen osasto
Puh:
Email:

Kuntoluokitus Shvartzin ja Reiboldin mukaan:

Kuntoluokka	Selite
1	erittäin heikko
2	heikko
3	välttävä
4	keskinkertainen
5	hyvä
6	erittäin hyvä
7	erinomainen

(Keskinen ym. 2004)

Valmistautumisohjeet tutkimukseen **Hiilihydraattipitoisen juoman fysiologiset vaikutukset**

Tutkimuksessa mitataan hiilihydraattipitoisen juoman aiheuttamia fysiologisia vasteita. Tarkastelemme muutoksia mm. veren glukoosi-, insuliini- ja rasvahappopitoisuuksissa, verenpaineessa ja sydämen sykkeessä.

Tutkimuspäivinä sinun tulisi varata aikaa noin neljä tuntia. Varsinainen mittausaika on 3 tuntia. Fysiologisia mittauksia varten ihollesi asetetaan mittausantureita. Lisäksi tutkimuksen aikana sinusta otetaan verinäytteitä. Mittaustuloksiin vaikuttavat tutkimusta edeltävien päivien liikunta sekä ravinto ja nautintoaineet. Siksi tutkimukseen tulee valmistautua seuraavien ohjeiden mukaisesti.

Tutkimuksen onnistumisen kannalta on ehdottoman tärkeää, että noudatat seuraavia ohjeita mahdollisimman tarkasti.

Koko tutkimusjakson aikana:

- Älä käy verenluovutuksessa.

24 tuntia ennen koeaamua:

- Vältä raskasta liikuntaa ja muuta raskasta 24 tuntia ennen tutkimusta.
- Älä nauti alkoholia kahtena tutkimusta edeltävänä päivänä.

Tutkimusta edeltävänä päivänä:

- Osa tutkimusjuomista sisältää nk. bioaktiivisia aineita, joita löytyy elintarvikkeista. Jotta koejuomien vaikutukset näkyisivät mahdollisimman selvästi, sinun tulisi olla nauttimatta tiettyjä elintarvikkeita tutkimuspäivää edeltävänä päivänä. Vältettäviä elintarvikkeita ovat:
 - tee (vihreä ja musta)
 - marjamehut ja hedelmämehut ja näitä sisältävät juomat
 - hedelmät (etenkin sitrushedelmät ja omena) sekä marjat
 - kasviksista sipuli, munakoiso, selleri ja parsakaali
 - suklaa ja kaakao
 - energiajuomat (esim. Red Bull™, Battery™)
 - urheilujuomat
- Tutkimusta edeltävänä päivänä sinun tulisi saada ravinnosta vähintään 150 grammaa hiilihydraatteja, jotta elimistösi hiilihydraattivarastot olisivat riittävän täydet tutkimuksen alkaessa. Tarvittava määrä ei ole suuri keskivertoruokavalioon verrattuna. Tämän ohjeen liitteessä on esimerkkejä ruokien sisältämistä hiilihydraattimääristä. Niiden avulla voit arvioida tutkimusta edeltävänä päivänä saamiesi hiilihydraattien määrää.
- Huolehdi riittävästä nesteen saannista tutkimusta edeltävänä päivänä juomalla 1-2 litraa vettä päivän aikana. Kahvia voit nauttia enintään kaksi kupillista päivän aikana. Muista, että mustan ja vihreän teen juontia tulisi välttää.

Tutkimusta edeltävä ilta/yö ja tutkimusaamu:

- Ennen mittausta tulisi olla vähintään 12 tuntia tupakoimatta.
- Näytteenottoa edeltävästä illasta klo 21 lähtien tulee olla ravinnotta, ainoastaan vettä saa kohtuudella juoda. Aamulla ennen liikkeelle lähtöä on hyvä juoda lasillinen vettä.
- Yritä nukkua vähintään kahdeksan tuntia tutkimusta edeltävänä yönä.
- Tutkimuspäivän aamuna vältä kaikkea turhaa rasitusta kuten suihkussakäyntiä. Varaa myös riittävästi aikaa matkaa varten, jotta se sujuisi mahdollisimman rauhallisesti. Saavu tutkimuspaikalle niin, että rasitat itseäsi mahdollisimman vähän. Käytä omaa autoa tai julkisia liikennevälineitä, älä pyöräile tai kävele pitkää matkaa.
- Tutkimustilanteessa verinäytteitä otetaan kyynärtaipeesta. Tämän takia mittaustilanteessa on hyvä olla lyhythihainen T-paita.

Mittaukset tehdään Meilahdessa Helsingin Urheilulääkäriaseman tiloissa (Paasikivenkatu 4) aamuisin klo 7:30–12:00 erikseen ilmoitetun aikataulun mukaan.

Kiitos vaivannäöstäsi ja mielenkiinnostasi tutkimusta kohtaan!

Jos sinulla on kysyttävää tutkimukseen liittyen, voit ottaa yhteyttä tutkija Harriet Hägglundiin, p., sähköposti:

RUOKIEN HIILIHYDRAATTIMÄÄRIÄ (lähde: Helminen, Viteli-Hietanen 2000)

Ruoka-aine tai ruoka	Annos	Hiilihydraattia g	Ruoka-aine tai ruoka	Annos	Hiilihydraattia g
Leivät, puurot, murot ja myslit			Maito ja piimä	2 dl (lasillinen)	10
Leipä	tavallinen viipale (n.30g)	15	Maustamaton jogurtti ja viili	2 dl	10
Sämpylä		20-30	Maustetut jogurtit ja viilit (useimmat)	1 prk	15-20
Näkkileipä	tavallinen viipale	10	Jäätelö	1 dl	10
Hapankorppu, voileipäkeksi	1 kpl	5	Jäätelötuutti		15-20
Puuro, veteen keitetty	1-1,5 dl	10	Jäätelöpuikko		5-10
Puuro, maitoon keitetty	1-1,5 dl	15	Juomat		
Aamiaismurot	1 dl	10	Virvoitusjuomat, sokerilla makeutetut	1 dl	10
Mysli, tavallinen	2 rkl (1 kukkurallinen n rkl)	10	Virvoitusjuomat, light	1 dl	0
Riisi, pasta (esim. makaroni)	1 dl	15	Virvoitusjuomat, sokerilla sekä keinotekoisesti makeutettu	1 dl	2-3
Peruna	keskikokoinen (60g)	10	Leivonnaiset		
Perunasose	1 dl	15	Pikkupulla	1 kpl	20-25
Laatikkoruuat	2 dl (200g)		Pullaviipale	1 kpl	10-15
Kaalilaatikko		20	Pikkuleipä, keksi	1 kpl	5
Makaroni-, lihamakaroni-, kalalaatikko, lasagne		30	Täytekeksi	1 kpl	10
Maksalaatikko		50	Täytekakku	tavallinen viipale (60g)	20
Risotot		20	Kakkuviipale	tavallinen pala	10-15
Keitot	3 dl (lautasellinen)		Marjapiirakka		n.20
Minestrone-, kaalikeitto		10	Muut		
Makkara-, kala-, lihakeitto	(riippuu perunan määrästä)	n. 20	Hampurilainen		30
Hernekeitto		20	Pitsa, ravintola		90
Pinaatti-, kesäkeitto		20	Pitsa, eines		60
			Karamellit, kovat	50g	50
			Lakritsa	50g	35

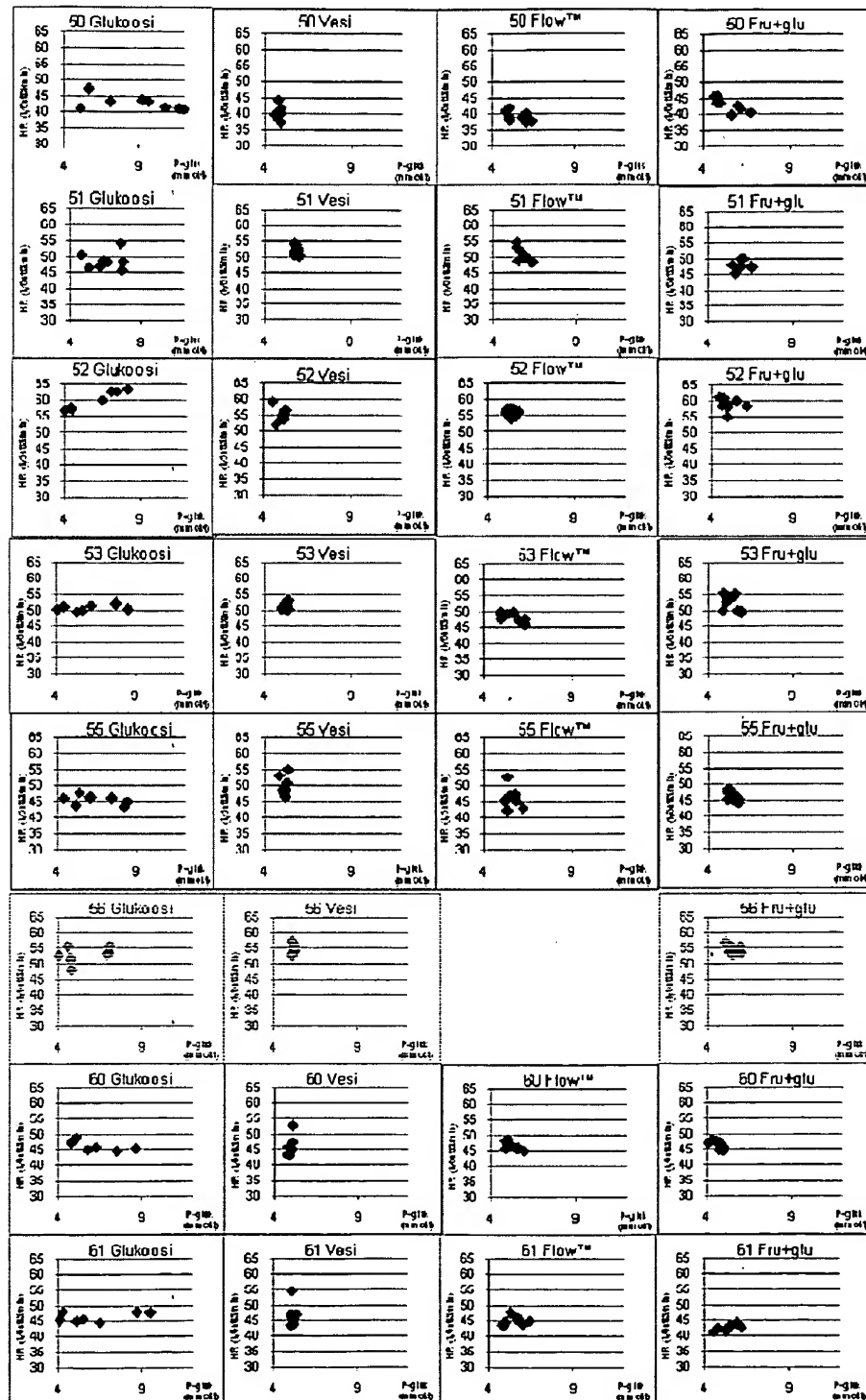
Tutkimuksessa mukana olleet äänikirjat

Paasilinna Arto. Jäniksen vuosi, lukija Ahti Jokinen, 5 CD, 2007, WSOY, Helsinki.

Remes Ilkka. Hiroshiman portti, lukija Lars Svedberg, 13 CD, 2004, WSOY, Helsinki.

Tuuri Antti. Talvisota, lukija Taneli Mäkelä, 6 CD, 2004, Otava, Helsinki.

Waltari Mika. Komisario Palmun erehdys, lukija Lars Svedberg, 8 CD, 2007, WSOY, Helsinki.



Sydämen sykkeet ja seerumin insuliinipitoisuudet
tutkimushenkilöittäin ja tutkimusjuomittain

Liite.9
2/4

